

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

WILLAINE COSTA

**INVESTIGAÇÃO DA CORRELAÇÃO *IN VITRO* - *IN VIVO* DE COMPRIMIDOS DE
SINVASTATINA**

CURITIBA

2015

WILLAINE COSTA

**INVESTIGAÇÃO DA CORRELAÇÃO *IN VITRO* - *IN VIVO* DE COMPRIMIDOS DE
SINVASTATINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de Concentração: Medicamentos, Insumos e Correlatos, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA

2015

Costa, Willaine

Investigação da Correlação *In Vitro* - *In Vivo* de Comprimidos de Sinvastatina / Willaine Costa. – Curitiba, 2015.

103 f. : il.;30cm

Orientador: Roberto Pontarolo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências da Saúde, Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Área de insumos, Medicamentos e Correlatos.

1. caracterização do estado sólido. 2. Correlação *in vitro* – *in vivo*. 3. solubilidade intrínseca. I. Pontarolo, Roberto. II. Título. III. Universidade Federal do Paraná

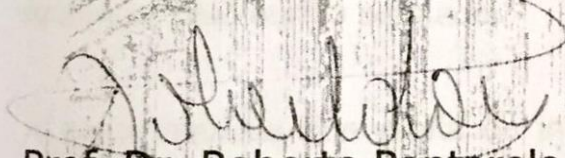
CDD 615.1

TERMO DE APROVAÇÃO


WILLAINE COSTA

**Título: "INVESTIGAÇÃO DA CORRELAÇÃO INVITRO INVIVO
DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA"**


Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Mestre, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.



Prof. Dr. Roberto Pontarolo
Orientador



Prof. Dr. Itamar Francisco Andreazza
Universidade Federal do Paraná



Prof. Dr. Fabio Seigi Murakami
Universidade Federal do Paraná

Curitiba, 21 de agosto de 2015.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela oportunidade de evolução.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Roberto Pontarolo, pela oportunidade, apoio, conhecimentos, paciência e confiança depositada para a realização deste trabalho.

À Indústria Farmacêutica Prati Donaduzzi e Cia Ltda e seus colaboradores por terem possibilitado o uso dos equipamentos e recursos, de fundamental importância para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de trabalho Dr. Claudia Coutinho e Dr. Ronald Alexander Acevedo, pelo auxílio prestado.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram na realização deste trabalho.

EM ESPECIAL:

Aos meus pais, pelo carinho, amor, conselhos e palavras de motivação em todos os momentos vividos em mais esta etapa da minha vida.

Ao meu esposo André, que sempre esteve ao meu lado, por todo amor, carinho e companheirismo recebidos.

RESUMO

A sinvastatina comprimidos é um medicamento amplamente utilizado no mundo para o tratamento de dislipidemias. Até o presente momento, não foi possível estabelecer uma correlação *in vitro* - *in vivo* com sucesso para este medicamento. O objetivo do presente trabalho foi avaliar esta correlação e comparar os resultados com um estudo de caracterização do estado sólido deste insumo farmacêutico ativo oriundo de cinco fornecedores diferentes, e investigar possíveis interações fármaco – excipientes que possam resultar na redução da solubilidade da sinvastatina. Cinco lotes de sinvastatina, oriundos de fornecedores distintos, foram caracterizados por meio de avaliação da solubilidade em equilíbrio, pureza cromatográfica, perfil granulométrico, microscopia óptica de luz polarizada, microscopia eletrônica, perfil calorimétrico, espectroscopia no infravermelho médio e difração de raios X. Apesar de todos os lotes pertencerem a mesma forma polimórfica, diferenças significativas no grau de cristalinidade, na solubilidade em equilíbrio e no perfil granulométrico foram verificadas entre os lotes. Aparentemente, os lotes que sofreram micronização apresentam menor grau de cristalinidade, e consequentemente, maior solubilidade. O estudo de compatibilidade química demonstrou interação entre a sinvastatina e o butilhidroxianisol, com formação de mistura eutética. Sabe-se também que os excipientes impactam na solubilidade do ativo, porém neste estudo somente o estearato de magnésio causou impacto nas quantidades normalmente empregadas na formulação. A quantidade ideal deste excipiente, para que se obtenha a melhor relação entre a solubilidade da sinvastatina e o tempo de desintegração do comprimido, foi de 1,0%. O perfil de dissolução não se demonstrou uma ferramenta válida na previsão da performance *in vivo*, porém verificou-se relação entre solubilidade em equilíbrio da sinvastatina na formulação e extensão da absorção *in vitro*.

Palavras-chave: sinvastatina, solubilidade em equilíbrio, caracterização do estado sólido.

ABSTRACT

Simvastatin tablets are employed to treat dyslipidemia widely around the world. Currently, a valid *in vitro* - *in vivo* correlation has not been established successfully. The aim of the present work was to assess this correlation, and compare the results with a solid-state characterization study, as well as to investigate possible drug – excipients interactions that may lead to a decrease in simvastatin solubility. Five batches of simvastatin, arising from different suppliers, were characterized by means of intrinsic solubility evaluation, chromatographic purity, particle size profile, polarized light optical microscopy, electronic microscopy, calorimetric profile, infrared measurement and X-ray powder diffraction. Although all lots referred to the same polymorph, significant differences in crystallinity degree, intrinsic solubility and particle size profile of each batch could be seen. Apparently, batches that have undergone micronization have a lower degree of crystallinity and, consequently, increased solubility.

Chemical compatibility study demonstrated interaction between simvastatin and butylhydroxyanisole with eutectic mixture formation. Also, excipients influence simvastatin' solubility, but only magnesium stearate causes impact in amounts normally used in formulation. The ideal amount of this excipient to obtain the better relationship between simvastatin solubility and tablet disintegration was 1.0%. The dissolution profile was not a valid tool in forecasting *in vivo* performance, however, a relationship between simvastatin solubility in water when in formulation and *in vitro* absorption extension were observed.

Keywords: simvastatin, intrinsic solubility, solid-state characterization.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – FORMULA ESTRUTURAL DA SINVASTATINA.....	20
FIGURA 2 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37 °C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.	26
FIGURA 3 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.	27
FIGURA 4 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA ZOCOR <i>VERSUS</i> MEDICAMENTO TESTE CANDIDATO A GENÉRICO DA PRATI, DONADUZZI E CIA LTDA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO PH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.	27
FIGURA 5 – CURVA DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA DOS MEDICAMENTOS SINVASTATINA (TESTE) E ZOCOR® (REFERÊNCIA) DE 61 VOLUNTÁRIOS.	28
FIGURA 6 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DE SOLUBILIDADE EM ÁGUA DE SINVASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, OBTIDA PELO SOFTWARE MINITAB.....	50
FIGURA 7 – CROMATOGRAMAS DA ANÁLISE DE SUBSTÂNCIAS RELACIONADAS DOS LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5 DE SINVASTATINA.	53
FIGURA 8 – PERFIL GRANULOMÉTRICO DA SINVASTATINA LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5.	55
FIGURA 9 – GRÁFICO DE REGRESSÃO LINEAR PARA “SOLUBILIDADE” VS “TAMANHO DE PARTÍCULA” OBTIDO COM O SOFTWARE MINITAB® 16	56
FIGURA 10 – MICROSCOPIA DOS LOTES 1) FORNECEDOR 1; 2) FORNECEDOR 2; 3) FORNECEDOR 3; 4) FORNECEDOR 4; 5) FORNECEDOR 5; AUMENTO DE 40X, a) ÓPTICA; b) LUZ POLARIZADA	58
FIGURA 11 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS LOTES 1) FORNECEDOR 1; 2) FORNECEDOR 2; 3) FORNECEDOR 3; 4)	

FORNECEDOR 4; 5) FORNECEDOR 5; a) ESCALA DE 50 μ M; b) ESCALA DE 2 μ M NAS FIGURAS 1 E 2, E DE 10 μ M NAS FIGURAS 4, 5 E 6.....	59
FIGURA 12 – CURVAS DE DTA E TG DA SINVASTATINA FORMA POLIMÓRFICA I	60
FIGURA 13 – TERMOGRAMA DA SINVASTATINA OBTIDO COM TAXA DE AQUECIMENTO DE 2°C/MIN, EM AR.....	61
FIGURA 14 – CURVAS DSC DE SINVASTATINA DOS FORNECEDORES 1, 2, 3, 4 E 5, SOB ATMOSFERA DE NITROGÊNIO E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C POR MINUTO.....	62
FIGURA 15 – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DE SINVASTATINA: 1) CRISTALINA, 2) AMORFA, E 3) AMORFA.....	63
FIGURA 16 – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DO PADRÃO DE SINVASTATINA E DOS LOTES DOS FORNECEDORES 1, 2, 3, 4 E 5.	64
FIGURA 17 – DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DOS LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5.....	65
FIGURA 18 – DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DE SINVASTATINA FORMA I.	66
FIGURA 19 – SOBREPOSIÇÃO DOS DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DOS CINCO LOTES DE SINVASTATINA.....	66
FIGURA 20 – CURVAS DE DSC DE MISTURAS BINÁRIAS (1:1) DE SINVASTATINA COM CADA EXCIPIENTE, SOB ATMOSFERA DE NITROGÊNIO E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C/MIN.....	68
FIGURA 21 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DO LOTE DO FORNECEDOR 1 E BHA (1:1 <i>p/p</i>).....	69
FIGURA 22 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 2 E BHA (1:1 <i>p/p</i>).....	69
FIGURA 23 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DO LOTE DO FORNECEDOR 3 E BHA (1:1 <i>p/p</i>).....	70
FIGURA 24 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 4 E BHA (1:1 <i>p/p</i>).....	70

FIGURA 25 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 5 E BHA (1:1 p/p).....	71
FIGURA 26 – BHA a) NO ESTADO SÓLIDO E b) APÓS AQUECIMENTO A 60°C .	72
FIGURA 27 – SINASTATINA ADICIONADA AO BHA FUNDIDO a) TEMPO ZERO; b) APÓS ALGUNS SEGUNDOS.....	72
FIGURA 28 – MISTURA DE BHA + SINASTATINA APÓS REFRIGERAÇÃO A 4°C POR 24 HORAS.....	73
FIGURA 29 – GRÁFICO DE REGRESSÃO PARA “SOLUBILIDADE” VS “% BHA” OBTIDO COM O SOFTWARE MINITAB® 16	75
FIGURA 30 – ESTRUTURA QUÍMICA DO ESTEARATO DE MAGNÉSIO.....	77
FIGURA 31 – ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO ULTRAVIOLETA DA SINASTATINA.	82
FIGURA 32 – CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 0,088 mg/mL DE SINASTATINA EM TFS pH 7,0 + 0,50% LSS.....	84
FIGURA 33 – PURITY PLOT DO PICO DE SINASTATINA NA SOLUÇÃO PADRÃO.	84
FIGURA 34 – CROMATOGRAMAS DA SOLUÇÃO PLACEBO NOS MEIOS a) TFS pH 7,0 + 0,50% LSS; b) FaSSGF; c) FaSSIF; d) SCoF.	85
FIGURA 35 – EQUAÇÃO DA RETA, COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO E GRÁFICO DE LINEARIDADE DA SINASTATINA OBTIDOS ATRAVÉS DE REGRESSÃO LINEAR 1/X.....	86
FIGURA 36 – GRÁFICO DOS RESÍDUOS PADRONIZADOS OBTIDO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR 1/X DE SINASTATINA	87
FIGURA 37 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINASTATINA 80 mg DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM ATIVO DE DIFERENTES FORNECEDORES, MEIO 900 mL DE TFS pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, APARATO PÁS E AGITAÇÃO DE 50 RPM.....	91
FIGURA 38 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINASTATINA 80 mg, DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, MEIO 900 mL DE TFS pH 7,0 COM	

0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, APARATO PÁS E AGITAÇÃO DE 50 RPM.....92

FIGURA 39 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINASTATINA 80 mg DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, EM DISSOLUTOR DE CÉLULA DE FLUXO, COM MEIOS FaSSGF POR 30 MINUTOS, FaSSIF POR 370 MINUTOS E SCoF POR 170 MINUTOS, FLUXO 8 mL/min, TEMPERATURA 37°C, TEMPO TOTAL DE ANÁLISE DE 9,5 HORAS. a)GRÁFICO CUMULATIVO; b) GRÁFICO DIFERENCIAL.93

FIGURA 40 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINASTATINA 80 mg, DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, EM DISSOLUTOR DE CÉLULA DE FLUXO COM MEIOS FaSSGF POR 30 MINUTOS, FaSSIF POR 370 MINUTOS E SCoF POR 170 MINUTOS, FLUXO 8 mL/min, TEMPERATURA 37°C, TEMPO TOTAL DE ANÁLISE DE 9,5 HORAS. a)GRÁFICO CUMULATIVO; b) GRÁFICO DIFERENCIAL.94

LISTA DE QUADROS E TABELAS

TABELA 1 – INTERVALOS DE CONFIANÇA PARAMÉTRICOS PARA A RAZÃO DAS MÉDIAS DAS FORMULAÇÕES TESTE E REFERÊNCIA ZOCOR® DOS DADOS TRANSFORMADOS EM LOGARITMO NATURAL	28
TABELA 2 – ESPECIALIDADES E INSUMOS FARMACEUTICOS.....	33
TABELA 3 – MATERIAL GERAL.....	34
TABELA 4 – REAGENTES COM PUREZA CROMATOGRÁFICA.....	34
TABELA 5 – EQUIPAMENTOS.....	35
TABELA 6 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL	38
TABELA 7 – GRADIENTE DE FASE MÓVEL	39
TABELA 8 – VOLUMES PIPETADOS E CONCENTRAÇÕES CORRESPONDENTES PARA A ANÁLISE DE LINEARIDADE DE SINVASTATINA.	44
TABELA 9 – INSTRUÇÕES PARA PREPARO DAS AMOSTRAS DOS PARÂMETROS REPETITIVIDADE E EXATIDÃO DE SINVASTATINA	45
TABELA 10 – COMPOSIÇÃO DOS MEIOS DE DISSOLUÇÃO EMPREGADOS NO PERFIL DE DISSOLUÇÃO EM APARATO IV.	47
TABELA 11 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO E COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO DE SINVASTATINA	49
TABELA 12 – SOLUBILIDADE EM ÁGUA DE DIFERENTES LOTES DE SINVASTATINA, OBTIDA A PARTIR DO MÉTODO DO EQUILÍBRIO	49
TABELA 13 – SOLUBILIDADE DOS DIFERENTES LOTES DE SINVASTATINA EM DIFERENTES MEIOS COM DIFERENTES VALORES DE pH E QUANTIDADES DE TENSOATIVOS.....	52
TABELA 14 – RESULTADOS E ESPECIFICAÇÕES, EM PORCENTAGEM, DA ANÁLISE DE PUREZA CROMATOGRÁFICA DE DIVERSOS LOTES DE SINVASTATINA	54

TABELA 15 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO BHA NA SOLUBILIDADE EM ÁGUA DA SINVASTATINA	74
TABELA 16 – AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DOS EXCIPIENTES DA FORMULAÇÃO EM DIFERENTES PROPORÇÕES NA SOLUBILIDADE EM ÁGUA DA SINVASTATINA.....	76
TABELA 17 – SOLUBILIDADE E TEMPO DE DESINTEGRAÇÃO EM FORMULAÇÕES CONTENDO QUANTIDADES CRESCENTES DE ESTEARATO DE MAGNÉSIO	77
TABELA 18 – SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO DA SINVASTATINA EM FORMULAÇÕES PREPARADAS COM ATIVO DE FORNECEDORES DIFERENTES	78
TABELA 19 – PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS DA SOLUÇÃO PADRÃO 0,088 mg/mL DE SINVASTATINA EM TFS pH 7,0 + 0,50% LSS	84
TABELA 20 – ANÁLISE DOS MÍNIMOS QUADRADOS DA REGRESSÃO LINEAR DE SINVASTATINA	87
TABELA 21 – REPETIBILIDADE E EXATIDÃO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS.....	89
TABELA 22 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS – 1º DIA.....	89
TABELA 23 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS – 2º DIA.....	89
TABELA 24 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS.....	90
TABELA 25 – ROBUSTEZ DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA COMPRIMIDOS	91

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1 – CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE SINVASTATINA NA ALÍQUOTA.....	38
EQUAÇÃO 2 – CÁLCULO DA RECUPERAÇÃO	45
EQUAÇÃO 3 – EQUAÇÃO DA RETA	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IVIV – *in vitro* - *in vivo*

DSC – calorimetria exploratória diferencial

DRX – difratometria de raios X

IR – espectroscopia no infravermelho

HMG CoA – hidroximetilglutaril coenzima A

LDL – lipoproteína de baixa densidade

VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade

HDL – lipoproteínas de alta densidade

TGI – trato gastro intestinal

C_{máx} – concentração plasmática máxima

SCB – sistema de classificação biofarmacêutica

FaSSIF – Fluido intestinal simulando estado de jejum

FeSSIF – Fluido intestinal simulando estado alimentado

FaSSGF – Fluido gástrico simulando estado de jejum

SCoF – Fluido colônico simulado

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – *Food and Drug Administration*

IFA – ingrediente farmacêutico ativo

ssNMR – ressonância nuclear magnética do estado sólido

TOF-SIMS – espectrometria de massas de íons secundários acoplada a detector de tempo de voo

XRSCD – raios X de cristal único

FGS – fluido gástrico simulado

TAS – tampão acetato de sódio

TFS – tampão fosfato de sódio

p/v – peso / volume

LSS – lauril sulfato de sódio

rpm – rotações por minuto

CLAE – cromatografia a líquido de alta eficiência

CLUE – cromatografia a líquido de ultra eficiência

BHA – Butilhidroxianisol

ASC – área sob a curva

FFSO – formas farmacêuticas sólidas orais

REF – medicamento de referência

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	18
2.1	OBJETIVO GERAL	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	19
3.1	HIPERLIPIDEMIAS, ATHEROSCLEROSE E DOENÇAS CARDIOVASCULARES	19
3.2	SINASTATINA	20
3.2.1	Propriedades Físico-Químicas.....	20
3.2.2	Farmacodinâmica da sinvastatina	21
3.2.3	Farmacocinética da sinvastatina.....	21
3.3	SOLUBILIDADE E DISSOLUÇÃO	22
3.3.1	Teste de dissolução com meios biorelevantes	23
3.3.2	Fatores que afetam a solubilidade <i>in vitro</i>	23
3.4	BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA.....	24
3.4.1	Correlação <i>in vitro-in vivo</i>	25
3.4.1.1	Ausência de correlação <i>in vitro-in vivo</i> para sinvastatina.....	26
3.5	ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO	29
3.5.1	Caracterização do Estado Sólido.....	30
4	MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1	MATERIAL	33
4.2	MÉTODOS.....	36
4.2.1	Caracterização do estado sólido do fármaco sinvastatina.....	36
4.2.1.1	Determinação da solubilidade em equilíbrio de sinvastatina.....	36
4.2.1.2	Quantificação das amostras do ensaio de solubilidade	37
4.2.1.3	Avaliação da pureza cromatográfica da sinvastatina	39
4.2.1.4	Determinação da distribuição granulométrica da sinvastatina	40
4.2.1.5	Análises por microscopia óptica e de luz polarizada.....	40
4.2.1.6	Análises por microscopia eletrônica de varredura.....	40
4.2.1.7	Análises por infravermelho.....	40
4.2.1.8	Determinação do perfil calorimétrico da sinvastatina	41

4.2.1.9	Análises por difração de raios X.....	41
4.2.2	Estudo de interação fármaco – excipiente.....	41
4.2.2.1	Avaliação da compatibilidade química entre a sinvastatina e os excipientes da formulação	41
4.2.2.2	Influência dos excipientes da formulação na solubilidade da sinvastatina.....	42
4.2.3	Avaliação da taxa de dissolução de comprimidos de sinvastatina manufaturados com diferentes fornecedores de IFA	42
4.2.3.1	Desenvolvimento do método para a quantificação de sinvastatina no teste de perfil de dissolução	43
4.2.3.2	Validação do método de quantificação das amostras de perfil de dissolução.....	43
4.2.3.3	Análise de perfil de dissolução em aparato II (pás).....	46
4.2.3.4	Análise de perfil de dissolução em aparato IV (célula de fluxo)	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.1	CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DO FÁRMACO SINVASTATINA	48
5.1.1	Solubilidade em equilíbrio da sinvastatina	48
5.1.2	Avaliação da pureza cromatográfica da sinvastatina.....	52
5.1.3	Determinação da distribuição granulométrica da sinvastatina.....	54
5.1.4	Análises por microscopia óptica e de luz polarizada	56
5.1.5	Análises por microscopia eletrônica de varredura	59
5.1.6	Determinação do perfil calorimétrico da sinvastatina.....	60
5.1.7	Análises por infravermelho médio.....	62
5.1.8	Análises por difração de raios X	65
5.2	ESTUDO DE INTERAÇÃO FÁRMACO – EXCIPIENTE	67
5.2.1	Avaliação da compatibilidade química entre a sinvastatina e os excipientes da formulação	67
5.2.2	Influência dos excipientes da formulação na solubilidade da sinvastatina	73
5.2.2.1	Influência do butil hidroxianisol na solubilidade da sinvastatina.....	73
5.2.2.2	Avaliação da influência dos demais excipientes na solubilidade da sinvastatina.....	75
5.2.2.3	Avaliação da interferência dos excipientes na solubilidade da sinvastatina em comprimidos	78

5.2.3	Avaliação da taxa de dissolução de comprimidos de sinvastatina manufaturados com diferentes fornecedores de IFA	79
5.2.3.1	Desenvolvimento do método para análise do perfil de dissolução em dissolutor de célula de fluxo	79
5.2.3.2	Desenvolvimento e validação do método por CLUE-DAD para quantificação de sinvastatina no teste de dissolução	80
5.2.3.2.1	Seletividade/Interferência do placebo	83
5.2.3.2.2	Linearidade	86
5.2.3.2.3	Precisão e Exatidão	88
5.2.3.2.4	Robustez.....	90
5.2.3.3	Análise de perfil de dissolução em Aparato II (pás)	91
5.2.3.4	Análise de perfil de dissolução em Aparato IV (célula de fluxo).....	92
6	CONCLUSÃO	96
7	REFERÊNCIAS	98

1 INTRODUÇÃO

A sinvastatina é um medicamento amplamente utilizado no Brasil e no mundo para a redução de colesterol. Segundo dados de pesquisa realizada pela Associação Brasileira das Indústrias de Medicamentos Genéricos em julho de 2013, a sinvastatina (genérico) figura no *ranking* dos 20 medicamentos mais prescritos no Brasil, ocupando a 12ª posição com 445.490 prescrições.

Trata-se de um fármaco pertencente à classe II da Classificação Biofarmacêutica, ou seja, possui baixa solubilidade e alta permeabilidade. A sua solubilização *in vivo* é um fator limitante para a absorção e para o aparecimento do efeito farmacológico (BUDAVARI, 2006; GRAESER et al., 2008). Desta forma, a sinvastatina é um excelente candidato para o estabelecimento de correlação *in vitro-in vivo* (IVIV).

Essencialmente, testes de dissolução constituem uma valiosa ferramenta durante o desenvolvimento de formulações. Indústrias farmacêuticas têm empregado este teste para avaliar ou prever a bioequivalência entre um medicamento referência e o seu candidato a genérico, uma vez que funcionam como uma boa mimetização *in vitro* para a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica e sua dissolução nos fluidos gastrointestinais (KOTROTSIOS, 2012). O teste de dissolução mais adequado é aquele que reflete mudanças feitas na formulação, no processo de fabricação e nas características físico-químicas do fármaco, quando essas mudanças influenciam significativamente a solubilidade ou atividade *in vivo* do produto (MARQUES, 2002).

Entretanto, a possibilidade de estabelecimento de correlação entre dados *in vitro* e *in vivo* para comprimidos de sinvastatina foi explorada, sem sucesso, uma vez que os resultados *in vitro* não são capazes de explicar as diferenças/semelhanças obtidas *in vivo* (MIRCIOIU, 2005).

Apesar de útil, o uso de perfil de dissolução comparativo na previsão de bioequivalência, existe o risco de se obter uma falsa previsão (MIRCIOIU, 2005), especialmente no caso da sinvastatina. Desta forma, faz-se necessário complementar os testes de perfil de dissolução comparativo com outras técnicas *in vitro*, visando um maior sucesso na previsão de bioequivalência.

Considera-se a hipótese de que a ausência de correlação IVIV de comprimidos de sinvastatina resida nas diferenças ainda não caracterizadas existentes entre os diversos fornecedores de sinvastatina, ou na interação entre o fármaco e excipientes da formulação que alterem a solubilidade deste ativo farmacêutico.

Desta forma, este trabalho justifica-se pela falta de dados que expliquem a ausência de correlação IVIV de comprimidos de sinvastatina, pela possibilidade de redução no tempo e no custo de desenvolvimento de formulações contendo este fármaco, pela possibilidade de aumento de sucesso nas bioequivalências com consequente redução do número de estudos *in vivo* necessários para garantir a adequada performance de formulações de uso oral contendo sinvastatina bem como contribuir pela melhora da qualidade dos medicamentos produzidos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a correlação *in vitro* - *in vivo* de sinvastatina comprimidos e comparar com um estudo de caracterização do estado sólido deste insumo farmacêutico ativo oriundo de cinco fornecedores diferentes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um teste de dissolução com meio biorrelevante e um método por CLAE - UV para avaliar o perfil de dissolução de comprimidos de liberação imediata de sinvastatina;
- Avaliar a correlação *in vitro* - *in vivo* de comprimidos de sinvastatina;
- Caracterizar a matéria-prima sinvastatina, oriunda de diferentes fornecedores, por diferentes técnicas: difração a laser, calorimetria exploratória diferencial (DSC), difratometria de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho (IV), microscopia eletrônica de varredura, microscopia óptica de luz polarizada, e solubilidade em equilíbrio;
- Avaliar a relação entre os resultados da caracterização do estado sólido e perfil de dissolução dos comprimidos;
- Investigar possíveis interações fármaco-excipiente que possam resultar na redução da solubilidade da sinvastatina.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 HIPERLIPIDEMIAS, ATEROSCLEROSE E DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Com o crescente aumento na expectativa de vida nas últimas décadas, as doenças cardiovasculares têm substituído as infecciosas como principal causa de morte (THOMPSON, 2013). No ano de 2011, as doenças cardiovasculares isquêmicas foram a principal causa de morte no mundo, com 7 milhões de vítimas, enquanto que acidentes vasculares cerebrais mataram cerca de 6,2 milhões de pessoas (WHO, 2013). No Brasil, em 2003, 37% dos óbitos foram decorrentes de doenças cardiovasculares (SILVA, 2013).

A hiperlipidemia (acúmulo de lipídeos no sangue) é a principal causa de aterosclerose e doenças associadas (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMAN, 2011). A aterosclerose é a causa primária de doenças cardíacas e acidentes vasculares cerebrais (LUSIS, 2000). Trata-se de uma doença inflamatória progressiva, caracterizada pelo acúmulo de lipídeos, colesterol e elementos fibrosos na parede das artérias de médio e grande calibre (LUSIS, 2013; XAVIER, 2013). O reconhecimento da hipercolesterolemia como um dos principais fatores de risco para doenças cardiovasculares levou ao desenvolvimento de fármacos que reduzem os níveis de colesterol (SILVA, 2009; SILVA, 2013).

As primeiras estatinas foram isoladas a partir de colônias de *Penicillium citrinum* (SILVA, 2009), e agem inibindo a hidroximetilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, enzima envolvida na etapa limitante da biossíntese do colesterol. Tal inibição causa uma depleção intracelular de colesterol, o que estimula fatores transcricionais e, consequentemente, a síntese e a expressão na membrana celular de receptores para captação do colesterol circulante, como lipoproteínas de baixa densidade, ou *low density lipoproteins* (LDL). Além disso, ao inibirem a HMG-CoA redutase, as estatinas reduzem a formação de mevalonato e de radicais isoprenil, atenuando a ativação de proteínas fundamentais à resposta inflamatória e à biodisponibilidade de óxido nítrico. Um estudo realizado com 170 mil pacientes demonstrou que para cada 40 mg/dL de redução do LDL-colesterol com estatinas, ocorreu 10% de redução na mortalidade por todas as causas, refletindo em parte na redução no número de mortes por doenças ateroscleróticas (XAVIER, 2013). Por

serem medicamentos de uso contínuo e de grande importância para a saúde pública, duas estatinas, a sinvastatina e a atorvastatina, estão presentes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME, 2002) estabelecida pela política nacional de medicamentos do governo brasileiro (SILVA, 2009).

3.2 SINVASTATINA

3.2.1 Propriedades Físico-Químicas

A sinvastatina (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8*aR*)-8-{2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxooxan-2-yl]ethyl}-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8*a*-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2-dimethylbutanoate) (CAS Nº 79902-63-9) é um derivado semissintético da lovastatina. Possui fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_5$, massa molecular de 418,57 g/mol e é um pó cristalino, praticamente insolúvel em água (cerca de 0,75 mg/L) e facilmente solúvel em metanol e etanol (KOTROTSIOS, 2012; USP 38, 2015).

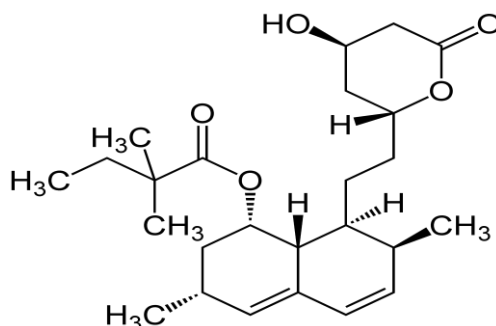


FIGURA 1 – FORMULA ESTRUTURAL DA SINVASTATINA
FONTE: USP 37, 2014.

A faixa de fusão da sinvastatina é de 135 – 138 °C. Não é higroscópica e não apresenta hidratos (PUBCHEM, 2013). Três diferentes formas polimórficas já foram descritas na literatura. A forma III, designada como monoclinica é estável apenas abaixo de 232 K, enquanto as formas II e I, ortorrômbricas, são estáveis na faixa de 232-272 K, e de 272 até a temperatura de fusão, respectivamente. A análise de difração de raios X indicou que as estruturas dos diferentes polimorfos são muito semelhantes. Evidências de ^{13}C RMN do estado sólido sugerem que a diferença entre elas reside apenas nas rotações da cadeia éster lateral, que são livres na

forma I acima de 272 K, tornam-se progressivamente mais rígidas na forma II à medida que a temperatura decresce, e são essencialmente congeladas na forma III (HUŠÁK et al., 2010; SIMÕES et al., 2013). Diferentes formas amorfas também já foram relatadas, com diferentes graus de cristalinidade (GRAESER, 2007).

3.2.2 Farmacodinâmica da sinvastatina

Considerando que dois terços do colesterol total são de origem endógena, e que o principal sítio de biossíntese é o fígado, a inibição da HMG-CoA hepática torna-se um alvo importante no tratamento de dislipidemias (HAMELIN; TURGEON, 1998).

A sinvastatina é um agente redutor do colesterol derivado sinteticamente de um produto de fermentação do *Aspergillus terreus* (ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2011) que age inibindo a biossíntese do colesterol através da inibição da HMG-CoA redutase, enzima que cataliza a conversão do hidroximetilglutaril (HMG) à mevalonato, uma etapa precoce e limitante da síntese do colesterol. Tal inibição leva a uma depleção intracelular de colesterol, o que acarreta na reabsorção do LDL circulante. Por se tratar de uma etapa precoce da síntese, não se espera acúmulo de esteroides potencialmente tóxicos (BRUNTON et al., 2011; HAMELIN; TURGEON, 1998; RANG; DALE, 2007).

Este fármaco é administrado como uma lactona inativa que após a ingestão é hidrolisada ao β -hidroxiácido correspondente, seu principal metabólito ativo (BRUNTON et al., 2011; JIN et al., 2014). Estudos clínicos realizados pelo fabricante do medicamento de referência ZOCOR® mostram que a sinvastatina é altamente eficaz na redução das concentrações plasmáticas do colesterol total, de LDL-colesterol, dos triglicérides e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e no aumento de lipoproteínas de alta densidade (HDL).

3.2.3 Farmacocinética da sinvastatina

Após administração oral, a sinvastatina é bem absorvida pelo trato gastro intestinal (TGI) e sofre extenso metabolismo de primeira passagem. A biodisponibilidade do β -hidroxiácido (metabólito ativo) para a circulação sistêmica é

menor do que 5% da dose administrada (KANG et al., 2007). A presença de alimentos não afeta significativamente a taxa de absorção. Tanto a sinvastatina quanto o seu metabólito ativo se ligam às proteínas plasmáticas a uma taxa de 95%. A concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) é alcançada em cerca de 1,3 a 2,4 horas após a administração. Após uma dose oral de sinvastatina radioativa em humanos, 13% da radioatividade foi excretada na urina e 60% nas fezes em 96 horas (ZOCOR, 2013).

Kang e colaboradores (2007) demonstraram que o polimorfismo no gene da CYP3A5 é o principal responsável pela alta variabilidade farmacocinética *in vivo* da sinvastatina.

3.3 SOLUBILIDADE E DISSOLUÇÃO

Solubilidade pode ser definida como a concentração de soluto em uma solução quando existe equilíbrio entre o soluto puro no estado sólido e em solução, em função da temperatura e da pressão ambiente, e tem sido convencionalmente atribuída à atividade termodinâmica máxima do soluto. No ramo das ciências farmacêuticas, solubilidade e biodisponibilidade estão intimamente relacionadas. Solubilidade e permeabilidade gastrointestinal compõem as bases do sistema de classificação biofarmacêutica proposto por Amidon e colaboradores (BRITAIN, 2009; LIU, 2008).

De acordo com a Resolução RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010, “é considerada altamente solúvel a substância ativa cuja quantidade correspondente a sua maior dose posológica disponível no mercado nacional é solúvel em 250 mL ou menos de meio aquoso em uma escala de pH de 1,2 - 6,8 em uma temperatura de $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ”. Neste contexto, a sinvastatina apresenta baixa solubilidade em água (cerca de 0,75 mg/L), sendo enquadrada na classe II do sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (KOTROTSIOS, 2012; RAO, 2012; SILVA, 2009).

Estudo de dissolução é uma ferramenta indispensável nas várias etapas dos processos de desenvolvimento galênico, na identificação de variáveis críticas na produção, formulação, controle de qualidade, estabelecimento de correlações IVIV e assuntos regulamentares (MANADAS, 2002). Nos estágios iniciais do desenvolvimento farmacotécnico, o teste de dissolução é utilizado para auxiliar na

identificação dos parâmetros de produção e da proporção ótima entre os excipientes para alcançar a taxa de dissolução pretendida (KAKHI, 2009).

3.3.1 Teste de dissolução com meios biorelevantes

Uma das aplicações mais importantes do teste de dissolução é prever o comportamento *in vivo* de formas farmacêuticas sólidas de uso oral. Entretanto, os tampões aquosos simples, tradicionalmente utilizados no controle de qualidade, usualmente não representam a condição fisiológica do trato gastrointestinal. A previsão da performance intraluminal geralmente requer uma simulação adequada das condições estomacais e da porção proximal do intestino delgado no que diz respeito à pH e hidrodinâmica. Esta é a razão pela qual é importante estudar a dissolução *in vitro* em um ambiente que mimetize as condições *in vivo* (FANG, 2010).

Galia e colaboradores (1997) propuseram os meios FaSSIF (*Fasted State Simulated Intestinal Fluid*) e FeSSIF (*Fed State Simulated Intestinal Fluid*) que simulam as condições intraluminais nos estados jejum e alimentado, respectivamente, de modo a mimetizar o pH, a tensão superficial, a capacidade tamponante e a quantidade de tensoativo dos meios fisiológicos nestes dois estados. Entretanto, devido à alta complexidade, tais meios apresentam custo elevado e precisam ser preparados no dia da análise. Zoeller e Klein (2007) propuseram os meios FaSSIF e FeSSIF simplificados, com o intuito de obter meios biorrelevantes de fácil preparação e estáveis por um longo período de tempo.

Embora tenha havido progresso na preparação de vários tipos de meios de dissolução biorrelevantes, avanços na mimetização da hidrodinâmica do TGI tem sido pouco satisfatórios devido à complexidade do TGI humano (FANG, 2010).

3.3.2 Fatores que afetam a solubilidade *in vitro*

Diversos são os fatores que influenciam a solubilidade de fármacos. Dentre eles, podem-se citar os inerentes ao fármaco, como natureza química, tamanho de partícula, área superficial, hábito cristalino e presença de polimorfismo; os inerentes

ao solvente, como polaridade, pH do meio, volume empregado; e inerentes ao ambiente, como temperatura e pressão (BEHERA, 2010).

A natureza química de um fármaco influencia na sua solubilidade. Moléculas ionizáveis ou na forma de sais geralmente são mais solúveis em água do que moléculas neutras ou na forma de base livre. O tamanho de partícula ou área superficial do fármaco não exerce influência na sua solubilidade em equilíbrio, enquanto a taxa de dissolução e de absorção são marcadamente afetadas por esta propriedade (LIU, 2008).

A estrutura cristalina de determinado sólido exerce efeito direto em sua solubilidade. Para que um sólido se dissolva, as forças de atração entre o soluto e o solvente devem ser superiores às forças atrativas que mantêm o sólido intacto. O balanço entre estas forças determinará a solubilidade em equilíbrio deste sólido. Diferentes estruturas cristalinas apresentam diferentes energias atrativas, e desta forma apresentarão solubilidades distintas. O efeito do polimorfismo se torna especialmente crítico ao se considerar que taxas de dissolução distintas das diferentes estruturas de uma mesma entidade química podem levar a diferentes graus de biodisponibilidade para cada polimorfo ou solvato. A velocidade de dissolução e a solubilidade em meio aquoso são algumas das características mais importantes de um fármaco, uma vez que determinam a biodisponibilidade do fármaco para a finalidade terapêutica pretendida (BRITAIN, 2009).

3.4 BIODISPONIBILIDADE E BIOEQUIVALÊNCIA

A via oral é a forma de administração de medicamentos mais cômoda e mais comumente empregada, uma vez que é de fácil manejo, não invasiva, apresenta alta adesão por parte dos pacientes, boa relação custo-benefício, não requer esterilidade e permite flexibilização no delineamento da forma farmacêutica (KRISHNAIAH, 2010). Entretanto, medicamentos administrados por via oral pode ter problemas de baixa biodisponibilidade o que pode comprometer a efetividade.

Segundo o *Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência*, publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 2002, biodisponibilidade é a taxa e a extensão na qual uma molécula ativa é absorvida e se torna disponível no sítio de ação da droga, em função do tempo.

Desta forma, o efeito farmacológico é diretamente dependente da solubilidade do fármaco em questão, uma vez que a biodisponibilidade oral depende de diversos fatores como solubilidade em água, permeabilidade, taxa de dissolução, metabolismo de primeira passagem, metabolismo pré-sistêmico e susceptibilidade a mecanismos de efluxo (KRISHNAIAH, 2010).

Considerando o alto custo envolvido no desenvolvimento de novos fármacos, a expiração recente de patentes de um número significativo de moléculas e as diversas vantagens da via oral, muitas indústrias tendem a produzir medicamentos genéricos, os quais devem ser obrigatoriamente submetidos a ensaio de bioequivalência (KRISHNAIAH, 2010). Bioequivalência, ou biodisponibilidade relativa, trata-se de um ensaio *in vivo* comparativo entre medicamentos administrados pela mesma via extravascular, os quais, quando bioequivalentes, não devem diferir estatisticamente com relação à biodisponibilidade (BRASIL, 2002).

Fármacos pertencentes à classe II do SCB como a sinvastatina, em que a baixa solubilidade é o fator limitante da absorção, são excelentes candidatos para o estabelecimento de correlação IVIV.

3.4.1 Correlação *in vitro-in vivo*

Correlação IVIV pode ser definida como um modelo matemático preditivo que descreve a relação entre a propriedade *in vitro* de uma forma farmacêutica de uso oral e a resposta relevante *in vivo*. Geralmente, a propriedade *in vitro* é a taxa ou extensão da dissolução ou liberação do fármaco da forma farmacêutica, enquanto que a resposta *in vivo* é a concentração plasmática ou quantidade absorvida (LU, 2011).

Correlações entre dados *in vitro* e *in vivo* são frequentemente utilizadas durante o desenvolvimento farmacotécnico com o objetivo de reduzir o tempo de desenvolvimento e otimizar a formulação (CARDOT, 2007).

Para desenvolver uma correlação IVIV efetiva, as propriedades físico-químicas e biofarmacotécnicas do fármaco, bem como o meio fisiológico do trato gastrointestinal devem ser levados em consideração. Fatores-chave incluem a solubilidade do fármaco, pKa, permeabilidade, coeficiente de partição octanol-água e pH do meio (LU, 2011). Uma correlação IVIV adequadamente validada pode ser

empregada no estabelecimento de limites para o ensaio de dissolução e como substituta de estudos *in vivo* (ROUDIER *et al.*, 2014).

3.4.1.1 Ausência de correlação *in vitro-in vivo* para sinvastatina

Dados da literatura sugerem que formulações bioequivalentes de sinvastatina na forma farmacêutica comprimido não apresentam necessariamente perfis de dissolução semelhantes, conforme visualizado na figura 2.

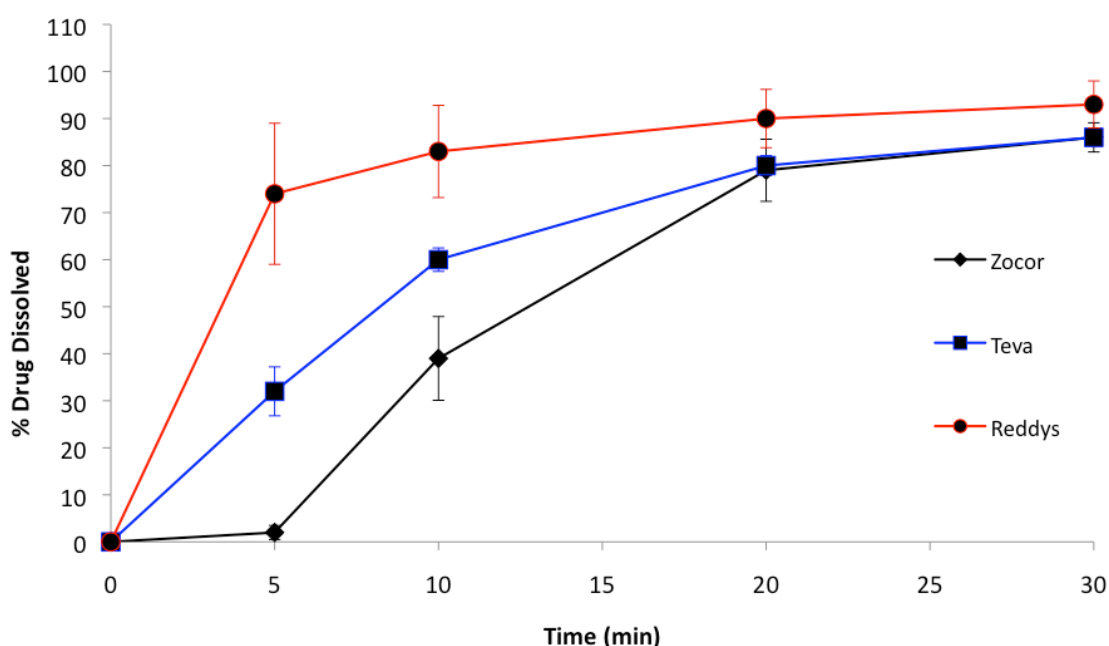


FIGURA 2 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37 °C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.
FONTE: KOTROTSIOS, 2012.

Como pode ser observado na figura 2, neste estudo realizado com os genéricos aprovados pelo FDA (Reddys e Teva), os perfis de dissolução não foram semelhantes ao medicamento de referência Zocor®. O mesmo pode ser visualizado na análise dos genéricos aprovados no Brasil (Figura 3).

Estes dados mostram que o perfil de dissolução *in vitro* pode às vezes induzir a uma falsa previsão e que uma possível bioequivalência obtida nestas condições pode ser um mero acaso, não tendo sido alcançada com base em evidências práticas e científicas.

Os resultados visualizados nas Figuras 4 e 5 e Tabela 1, cedidos pela empresa Prati, Donaduzzi e Cia Ltda, corroboram com o relatado na literatura.

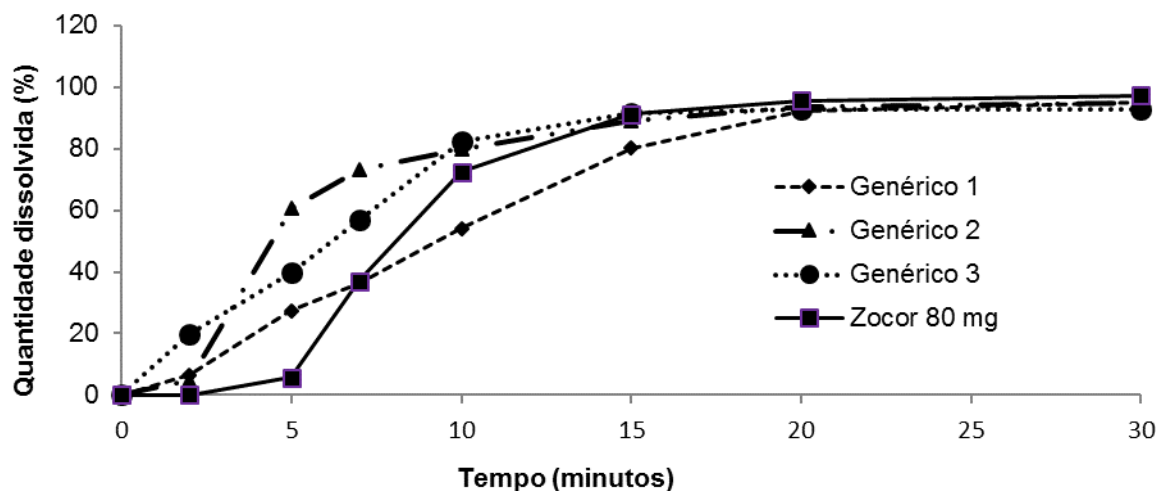


FIGURA 3 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.

DADOS: FATORES DE SEMELHANÇA F2, GENÉRICO 1 = 40,99; GENÉRICO 2 = 28,47; GENÉRICO 3 = 38,76

FONTE: O AUTOR, 2013.

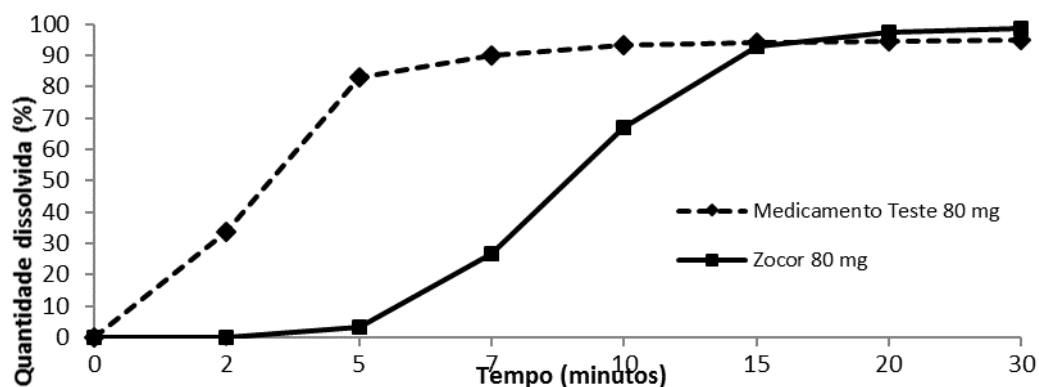


FIGURA 4 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA ZOCOR *VERSUS* MEDICAMENTO TESTE CANDIDATO A GENÉRICO DA PRATI, DONADUZZI E CIA LTDA, 80 mg EM 900 mL DE MEIO TAMPÃO FOSFATO PH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, AGITADO POR PÁS, 50 RPM.

DADOS: FATOR DE SEMELHANÇA F2 = 22,16

FONTE: PRATI, DONADUZZI, 2013.

TABELA 1 – INTERVALOS DE CONFIANÇA PARAMÉTRICOS PARA A RAZÃO DAS MÉDIAS DAS FORMULAÇÕES TESTE E REFERÊNCIA ZOCOR® DOS DADOS TRANSFORMADOS EM LOGARITMO NATURAL

Razão T/R	Média Geométrica	Intervalo de Confiança (90%)	Intervalo de Bioequivalência	CV	Poder do Teste
$\text{Ln}(C_{\text{máx}})$	104,55%	(92,77% - 117,82%)	(80 % - 125%)	41,02%	92,38%
$\text{Ln}(\text{ASC}_{0-t})$	84,73%	(76,00% - 94,47%)	(80 % - 125%)	37,09%	95,79%
$\text{Ln}(\text{ASC}_{0-\text{inf}})$	83,51%	(73,72% - 94,60%)	(80 % - 125%)	42,60%	90,39%

FONTE: PRATI, DONADUZZI, 2013.

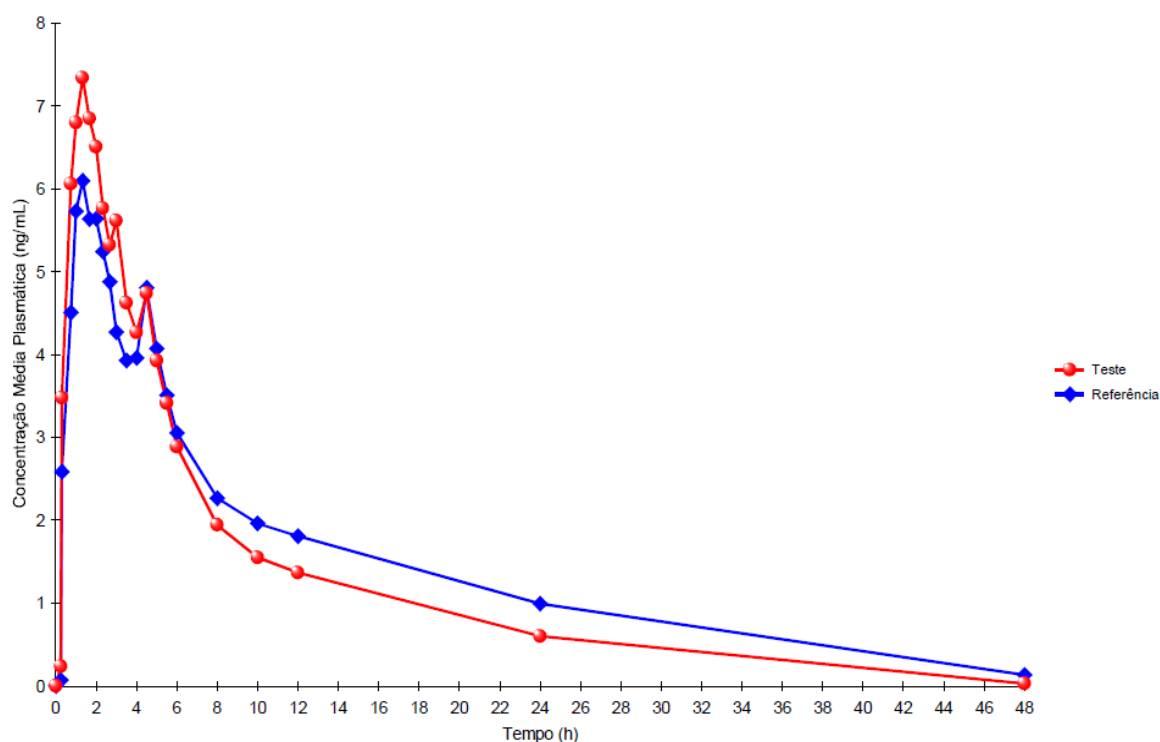


FIGURA 5 – CURVA DE CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA MÉDIA DOS MEDICAMENTOS SINVASTATINA (TESTE) E ZOCOR® (REFERÊNCIA) DE 61 VOLUNTÁRIOS.

FONTE: PRATI, DONADUZZI, 2013.

Conforme visualizado nas figuras 4 e 5, verifica-se que mesmo a formulação candidata a genérico tendo apresentado perfil de liberação *in vitro* mais rápido do que o medicamento de referência, tal diferença não existe *in vivo*. Apesar de o medicamento teste liberar o ativo da forma farmacêutica mais rápido do que o medicamento referência Zocor®, a extensão da absorção do medicamento teste é inferior ao do medicamento referência, uma vez que a razão entre as áreas sob a curva dos medicamentos teste e referência foi de apenas 84%. Uma vez que o perfil *in vivo* deste medicamento não pode ser explicado pelo perfil *in vitro*, faz-se

necessário a exploração de técnicas adicionais capazes de explicar tal divergência, e até mesmo capazes de prever o comportamento *in vivo*.

3.5 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

Os estudos de pré-formulação têm se tornado uma ferramenta cada vez mais difundida na indústria farmacêutica. É sabido que sólidos farmacêuticos podem existir em mais de uma forma morfológica (cristal, amorfo). As diferentes formas sólidas de um fármaco podem apresentar propriedades físicas e químicas diferentes, incluindo cor, morfologia, estabilidade, solubilidade, ponto de fusão, e taxa de dissolução (BUGAY, 2001). A influência do polimorfismo na biodisponibilidade é considerada a mais importante consequência do fenômeno na área farmacêutica e ocorre quando existe dependência entre a velocidade de dissolução *in vitro* e a velocidade de absorção (ARAÚJO, 2009). Tipicamente, a forma mais estável termodinamicamente é a escolhida para o desenvolvimento do produto, porém, recentemente, formas metaestáveis têm sido utilizadas devido ao aumento na dissolução e na biodisponibilidade. Portanto uma caracterização completa do ativo farmacêutico é necessário para que seja possível compreender as propriedades físicas e químicas do material (BUGAY, 2001).

Diante da importância do polimorfismo para a qualidade de medicamentos, os órgãos reguladores têm exigido para o registro de medicamentos, tanto novos como genéricos, estudos que comprovem o monitoramento e o controle de qualidade das formas polimórficas existentes (ARAÚJO, 2009).

Uma visão mais racional sugere que estes estudos sejam estendidos a todos os componentes da formulação, para se compreender como o IFA interage com os demais componentes. Os excipientes podem possuir propriedades essenciais para a liberação do IFA da forma farmacêutica, sob determinadas condições. Para uma forma farmacêutica sólida designada a liberar rapidamente o ativo, não é desejável que existam interações entre o IFA e os demais excipientes, uma vez que tais interações normalmente representam prejuízo na qualidade e na estabilidade da formulação (ADEYEYE, BRITAIN e col., 2008). Desta forma, é imprescindível que um estudo de pré-formulação completo, incluindo o IFA e todos os excipientes, seja realizado, e que todas as propriedades físicas e químicas da formulação sejam

compreendidas, para que se desenvolva um produto com qualidade, eficácia e segurança.

3.5.1 Caracterização do Estado Sólido

Muitas considerações devem ser feitas ao selecionar a técnica espectroscópica de escolha para a caracterização do estado sólido de uma entidade farmacêutica. Teoricamente, cada técnica é baseada em um fenômeno único: infravermelho (IV), energia de absorção; Raman, espalhamento inelástico, ressonância nuclear magnética do estado sólido (ssNMR), energia de absorção enquanto a amostra está sob ação de um campo magnético; e TOF-SIMS, ionização. Devido à natureza única de cada técnica e aos vários objetivos da caracterização do estado sólido, uma técnica pode ser mais adequada que a outra. É também muito importante entender as limitações de cada uma. Provavelmente, o aspecto mais importante para cada técnica é a preparação da amostra. Tipicamente, a caracterização física de sólidos farmacêuticos requer análises não intrusivas (BUGAY, 2001).

No passado, a caracterização do estado sólido do ingrediente farmacêutico ativo era realizada principalmente por microscopia óptica, difração de raios X, e técnicas térmicas, incluindo a calorimetria exploratória diferencial e a análise termogravimétrica. Nos anos 1940, a espectrometria no infravermelho se tornou uma importante ferramenta. Recentemente, a espectroscopia RAMAN e a RMN do estado sólido foram adicionadas ao arsenal de técnicas disponíveis para a caracterização física de ingredientes ativos. Adicionalmente às técnicas tradicionais, a espectrometria de massas de íons secundários acoplada a detector de tempo de voo (TOF-SIMS) tem sido empregada com sucesso para esta finalidade. Apesar de a técnica não ser capaz de diferenciar entre as diversas formas polimórficas anidras de uma molécula, permite a caracterização espacial de um fármaco dentro de uma forma farmacêutica. Porém, o mesmo pode ser obtido por IV ou por RAMAN, com a vantagem da diferenciação entre as formas polimórficas do fármaco (BUGAY, 2001).

A abordagem da calorimetria exploratória diferencial usualmente envolve a aplicação de aquecimento linear e a subsequente determinação da temperatura e energia associadas com as faixas de eventos térmicos, incluindo fusão,

cristalização, transição vítrea, e reações de decomposição (CRAIG & READING, 2007). O objetivo do experimento é manter a amostra (em cadinho de metal) e a referência (cadinho vazio), a pressão constante, na mesma temperatura através de um gradiente de temperatura. Aquecer a amostra requer mais energia do que aquecer a referência, uma vez que é necessário elevar a temperatura da amostra e do cadinho. Se o fornecimento de calor for contínuo, eventualmente a amostra começará a fundir (GESTEL, 2007). Quanto uma amostra funde, a taxa de aumento de temperatura para a amostra será inferior à taxa da referência, uma vez que a energia transmitida pelo sinal de aquecimento estará contribuindo para a quebra de ligações sólido – sólido ao invés de simplesmente elevar a temperatura da amostra (CRAIG & READING, 2007). Em uma plotagem de fluxo de aquecimento *versus* temperatura, um evento endotérmico poderá ser visualizado. Um pico exotérmico aparecerá quando ocorrer recristalização. Sólidos metaestáveis podem apresentar dois pontos de fusão. Após a primeira fusão, um líquido metaestável é formado, que pode se recristalizar a temperaturas mais altas em uma estrutura cristalina diferente. Neste processo, energia será liberada e um pico exotérmico pode ser esperado. Logo após a recristalização, a amostra fundirá novamente, com um pico endotérmico (GESTEL, 2007).

Os aspectos qualitativos da espectroscopia de infravermelho são os atributos mais poderosos desta técnica (COATES, 2000). Uma das grandes vantagens desta técnica é que virtualmente qualquer amostra, em qualquer estado, pode ser analisada (STUART, 2004). Em termos básicos, o espectro de infravermelho é formado como consequência da absorção de radiação eletromagnética em frequências que se correlacionam com a vibração de conjuntos específicos de ligações químicas de uma molécula. O espectro vibracional de uma molécula é considerado uma propriedade física única e característica (COATES, 2000).

O formato mais comum de representar os dados espectrais de análises qualitativas é em porcentagem de transmitância, que tem uma relação logarítmica com o formato de concentração linear (absorbância). Este formato proporciona a melhor faixa dinâmica para ambas bandas fracas e fortes. Neste caso, os picos máximos são representados como mínimos, e são os pontos de menor transmitância para uma banda particular (COATES, 2000).

A difração de raios X é uma técnica conveniente para caracterização de materiais através de suas estruturas cristalinas. Quando um cristal que contém arranjos de átomos regularmente repetidos é irradiado por um feixe de raios X monocromático, gera uma impressão digital única na forma de picos de difração. Através deste processo de difração, o difratograma de uma forma sólida é utilizado para identificar os componentes cristalinos de uma amostra (CLEARFIELD, 2008).

Técnicas avançadas de espectrometria de RMN do estado sólido atualmente fornecem uma ampla gama de dados dinâmicos e estruturais, quali e quantitativos (BRUS & JEGOROV, 2004), além de apresentar relativamente poucos problemas no preparo das amostras para análises qualitativas e estudos de caracterização física. Uma vantagem desta técnica é a possibilidade de obtenção de análises de material em pó com pouca interferência do tamanho de partícula do sólido. Na maioria das configurações de detectores de RMN, a amostra é completamente envolta pela bobina receptora a qual mede o sinal de RMN, enquanto que nas espectrometrias Raman e IV o espectro pode ser oriundo de uma quantidade limitada de material. A técnica não só é capaz de diferenciar entre as diferentes formas sólidas de um material, como também é capaz de sondar intimamente os aspectos estruturais de cada forma sólida. Isto é especialmente importante para formas sólidas que não podem ser cristalizadas e analisadas por técnicas de raios X de cristal único (XRSCD) (BUGAY, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

A substância química de referência, especialidades farmacêuticas, matéria-prima, reagentes e equipamentos utilizados para o desenvolvimento deste trabalho encontram-se listados nas tabelas a seguir.

4.1 MATERIAL

TABELA 2 – ESPECIALIDADES E INSUMOS FARMACEUTICOS

Produto	Tipo	Lote	Procedência
SQR*	Simvastatin (99,80%)	H1H247	U.S. Pharmacopeia
Medicamento (Zocor®)	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	OJ199	Merck Sharp & Dohme
Comprimido	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	Formulação 1	Prati, Donaduzzi ¹
Comprimido	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	Formulação 2	Prati, Donaduzzi ¹
Comprimido	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	Formulação 3	Prati, Donaduzzi ¹
Comprimido	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	Formulação 4	Prati, Donaduzzi ¹
Comprimido	Comprimidos de sinvastatina de liberação imediata	Formulação 5	Prati, Donaduzzi ¹
IFA	Fármaco sinvastatina	326262	Fornecedor 1
IFA	Fármaco sinvastatina	383462	Fornecedor 2
IFA	Fármaco sinvastatina	327680	Fornecedor 3
IFA	Fármaco sinvastatina	570419	Fornecedor 4
IFA	Fármaco sinvastatina	522006	Fornecedor 5
Excipiente	Butihidroxianisol	575807	Henrifarma Produtos Quím. e Farm. Ltda
Excipiente	Ácido ascórbico	623887	SM Empreendimentos Farm. Ltda
Excipiente	Ácido cítrico	580623	RZBC Co. Ltd.
Excipiente	Celulose Microcristalina	670017	Colorcon do Brasil Ltda
Excipiente	Talco	629304	Induken do Brasil Quím. Ltda

TABELA 2 – ESPECIALIDADES E INSUMOS FARMACEUTICOS (CONTINUAÇÃO)

Produto	Tipo	Lote	Procedência
Excipiente	Lactose Monohidratada	679760	Gerbras Química Farmacêutica Ltda
Excipiente	Estearato de Magnésio	638881	Induken do Brasil Quím. Ltda
Excipiente	Amido pré-gelatinizado	616256	Colorcon do Brasil Ltda
Excipiente	Dióxido de titânio	645785	Evonik Degussa do Brasil Ltda
Excipiente	Opadry pink	634615	Colorcon do Brasil Ltda

¹ As formulações 1 a 5 foram preparadas pelo autor deste trabalho, nas dependências dos laboratórios da Prati, Donaduzzi e Cia Ltda, com formulação qualitativamente semelhante ao Zocor®, variando apenas a procedência do ativo. * SQR (Substância Química de Referência)

FONTE: O AUTOR, 2015

TABELA 3 – MATERIAL GERAL

Material	Fabricante
Filtro de membrana GF 0,22 µm	Merck Millipore
Filtro de seringa PET 0,22 µm	Macherey-Nagel
Filtro de seringa PET 0,45 µm	Macherey-Nagel
Filtro de seringa PVDF 0,22 µm	Merck Millipore
Coluna cromatográfica C18, 50,0 x 2,1 mm, 1,7 µm	Waters
Coluna Cromatográfica C8, 50,0 x 2,1 mm, 1,7 µm	Waters
Coluna Cromatográfica C18, 33 x 4,6 mm, 3 µm	Supelco

FONTE: O AUTOR, 2015

TABELA 4 – REAGENTES COM PUREZA CROMATOGRÁFICA

Material	Fabricante
Fosfato de sódio monobásico	JT Baker
Taucorolato de sódio	Sigma-Aldrich
Lecitina	Sigma-Aldrich
Pepsina	Sigma-Aldrich
Ácido Maléico	Sigma-Aldrich
Laurilsulfato de sódio	Sigma-Aldrich
Polisorbato 80	JT Baker
Metanol	Scharlau

TABELA 4 – REAGENTES COM PUREZA CROMATOGRÁFICA (CONTINUAÇÃO)

Material	Fabricante
Acetonitrila	Scharlau
Ácido Clorídrico	JT Baker
Hidróxido de Sódio	JT Baker
Ácido Fórmico	Carlo Erba
Ácido Acético glacial	JT Baker
Acetato de Sódio monohidratado	JT Baker
Cloreto de Sódio	JT Baker
Citrato de Sódio	JT Baker
Ácido fosfórico	JT Baker
Fosfato de potássio monobásico	JT Baker
Acetato de amônio	JT Baker
Água ultrapura	Purificador Milli Q

FONTE: O AUTOR, 2015

TABELA 5 – EQUIPAMENTOS

Equipamento	Modelo
Balança analítica	Mettler Toledo XP-205
pHmetro	Gehaka PG1800
Oxímetro	Mettler Toledo OptiOx
Incubadora com agitação orbital	Quimis Q816M22
CLUE-DAD	Waters Acquity
Banho de ultrassom	Elmasonic E300H
Espectrofotômetro UV	Varian Cary 50
Dissolutor	Sotax AT7 SMART
Dissolutor USP aparato 4	Sotax CE7 SMART
Centrífuga	Eppendorf 5804
Analisador de partículas	Malvern Mastersizer 2000

TABELA 5 – EQUIPAMENTOS (CONTINUAÇÃO)

Equipamento	Modelo
DSC-TG	Mettler Toledo STARe SW
Espectrômetro IV	FTIR; Hitachi
Difratômetro de Raios X	Shimadzu XRD 6000
CLAE-UV	Shimadzu 20A
Microscópio de luz polarizada	Nikon Eclipse E200
Microscópio eletrônico	Phenom scanning electron microscope (SEM) (FEI, Hillsboro, Oregon, USA)
Ultra purificador de água	Milli Q Integral 5

FONTE: O AUTOR, 2015

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização do estado sólido do fármaco sinvastatina

4.2.1.1 Determinação da solubilidade em equilíbrio de sinvastatina

O teste de solubilidade da sinvastatina foi realizado através do método do equilíbrio, empregando a técnica do *shake-flask*, no equipamento *shaker* (incubadora com plataforma de agitação orbital).

A solubilidade em equilíbrio foi avaliada nos meios água, fluido gástrico simulado (FGS) pH 1,2, tampão acetato de sódio (TAS) pH 4,5, tampão fosfato de potássio (TFP) pH 7,0 e em TFP pH 7,0 contendo 0,25% e 0,50% de laurisulfato de sódio (LSS) e polisorbato 80.

O meio FGS pH 1,2 foi preparado transferindo-se 2,0 g de cloreto de sódio e 7,0 mL de ácido clorídrico para balão volumétrico de 1000 mL, contendo 500 mL de água purificada, e completando o volume com água. O conteúdo do balão foi homogeneizado e aquecido a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

O meio TAS pH 4,5 foi preparado transferindo-se 2,99 g de acetato de sódio trihidratado e 1,66 mL de ácido acético glacial para balão volumétrico de capacidade de 1000 mL, contendo 500 mL de água purificada. Após completa solubilização, o volume do balão foi completado com água para 1000 mL. O conteúdo do balão foi

homogeneizado e aquecido a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ após ajuste de pH para $4,50 \pm 0,05$ com solução de ácido acético 50% (v/v).

O meio TFS pH 7,0 foi preparado transferindo-se 6,805 g de fosfato de sódio monobásico e 1,66 mL de ácido acético glacial para balão volumétrico de capacidade de 1000 mL, contendo 500 mL de água purificada. Após completa solubilização, o volume do balão foi completado com água purificada para 1000 mL. O conteúdo do balão foi homogeneizado e aquecido a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ após ajuste de pH para $7,0 \pm 0,05$ com solução de ácido acético ou hidróxido de sódio 50% (v/v) dependendo do pH. Os meios TFS pH 7,0 contendo 0,25% e 0,50% (p/v) de LSS e polissorbato 80 foram preparados dissolvendo 2,5 g e 5,0 g de LSS ou polissorbato 80, respectivamente, em 1000 mL de TFS pH 7,00.

Amostras de 80 mg do IFA (quantidade suficiente para saturar o meio de solubilização) foram adicionadas a frascos com 100 mL de capacidade, com tampa, contendo previamente 40 mL de meio. Os frascos foram adaptados ao equipamento e a temperatura ajustada para $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ sob agitação de 250 rpm por 24 horas. Ao término deste tempo, uma alíquota de cada frasco foi coletada e centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi diluído na proporção 1:1 (v/v) com diluente e transferido para vial transparente e quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), como descrito em 4.2.1.2.

4.2.1.2 Quantificação das amostras do ensaio de solubilidade

A sinvastatina dissolvida no ensaio de solubilidade foi quantificada por CLAE com detector de arranjo de fotodiodos conforme método de doseamento descrito na monografia deste fármaco da *U.S. Pharmacopeia* 37.

O método cromatográfico encontra-se detalhado a seguir.

Soluções e Fase Móvel:

- Fase Móvel: Utilizar volumes variáveis de Solução A e B, conforme tabela 6.
- Solução A: preparar uma mistura de acetonitrila e ácido fosfórico diluído 0,02M (50:50 v/v).
- Solução B: transferir 1 mL de ácido fosfórico concentrado para balão volumétrico de capacidade 1000 mL contendo 500 mL de acetonitrila. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

- Diluente: preparar uma mistura de solução tampão fosfato de potássio 10 mM pH 4,0 e acetonitrila (3:2 v/v)

Sistema cromatográfico:

- Coluna cromatográfica: Supelcosil LC-18 4,6 x 33 mm, 3 µm;
- Detector: UV 238 nm;
- Fluxo: 3,0 mL/min;
- Volume de injeção: 5 µL;
- Temperatura da coluna: 23°C;

TABELA 6 – GRADIENTE DA FASE MÓVEL

Tempo (min)	Solução A (%)	Solução B (%)
0 – 4,5	100	0
4,5 – 4,6	100 → 95	0 → 5
4,6 – 8,0	95 → 25	5 → 75
8,0 – 11,5	25	75
11,5 – 11,6	25 → 100	75 → 0
11,6 – 15	100	0

FONTE: USP 37, 2014.

Para a obtenção da curva de calibração para quantificação das amostras, foram preparadas soluções do padrão de sinvastatina em cinco níveis de concentração (1,0 µg/mL, 2,0 µg/mL, 4,0 µg/mL, 5,0 µg/mL, 10,0 µg/mL) em solução diluente.

A quantidade de sinvastatina dissolvida na alíquota tomada, em mg/mL, foi calculada pela fórmula a seguir:

$$Conc \text{ (mg/mL)} = \frac{Aa - b}{a} \times 2$$

EQUAÇÃO 1 – CÁLCULO DA CONCENTRAÇÃO DE SINVASTATINA NA ALÍQUOTA.

Em que **Conc** (mg/mL) é a concentração de fármaco, em mg/mL, dissolvida na alíquota, **Aa** é a área do pico da sinvastatina no cromatograma da solução amostra, **b** é a inclinação da reta obtida com a curva de calibração e **a** é o intercepto.

4.2.1.3 Avaliação da pureza cromatográfica da sinvastatina

A avaliação da pureza cromatográfica da sinvastatina foi realizada conforme ensaio de substâncias relacionadas preconizado na monografia da *British Pharmacopoeia* (2014), conforme descrito a seguir:

Soluções e Fase móvel:

- Fase móvel: gradiente entre as soluções A e B conforme Tabela 7.
- Solução A: acetonitrila e solução de ácido fosfórico 0,1% (50:50 v/v).
- Solução B: Transferir 1 mL de ácido fosfórico (85%) para recipiente contendo 850 mL de acetonitrila.
- Solução Diluente: mistura contendo acetonitrila e solução tampão fosfato de potássio 10 mM pH 4,0 (60:40 v/v).

Sistema Cromatográfico:

- Fluxo: 3,0 mL/min;
- Detector: UV 238 nm;
- Volume injetado: 5 µL;
- Temperatura: ambiente;
- Coluna: Supelcosil LC-18 33 x 4,6 mm, 3 µm;
- Tempo de retenção relativo aproximado: Impureza A = 0,50 min, Impureza E + F = 0,60 min, Impureza G = 0,80 min, Impureza B e C = 2,4 min e Impureza D = 3,8 min.

TABELA 7 – GRADIENTE DE FASE MÓVEL

Tempo (minutos)	Solução A	Solução B
0 – 4,5	100	0
4,5 – 4,6	100 → 95	0 → 5
4,6 – 8,0	95 → 25	5 → 75
8,0 – 11,5	25	75
11,5- 11,6	25 → 100	75 → 0
11,6 – 15	100	0

FONTE: BRITISH PHARMACOPOEIA, 2014.

4.2.1.4 Determinação da distribuição granulométrica da sinvastatina

O perfil de distribuição granulométrico da sinvastatina foi realizado no módulo úmido do analisador de tamanho de partícula por difração a *laser* (Mastersizer, Malvern), com rotação de 1500 rpm, obscuração de 10 a 20% e ultrassom 50%.

As amostras foram preparadas dispersando a sinvastatina em 2% de polisorbato 20 e levando ao ultrassom por 2 minutos.

4.2.1.5 Análises por microscopia óptica e de luz polarizada

As amostras de sinvastatina foram depositadas em lâminas de vidro, dispersas com uma gota de polissorbato 80, cobertas com lamínula e observadas em microscópio de luz polarizada Nikon Eclipse E200. As imagens foram capturadas pelo *software* do equipamento.

4.2.1.6 Análises por microscopia eletrônica de varredura

Os espectros de varredura dos diferentes lotes de sinvastatina foram obtidos utilizando um microscópio eletrônico Phenom de varredura (SEM) (FEI, Hillsboro, Oregon, EUA) com uma resolução de 30 nM. Amostras em pó foram fixadas usando fita de cobre metálico e foram revestidas com ouro para geração de imagens usando um *Balzers*. União SCD 030 FL 9496 (Balzers, Liechtenstein).

4.2.1.7 Análises por infravermelho

As amostras de cada lote de sinvastatina foram dessecadas por 3 horas a 60°C antes do uso, analisadas no espectrômetro de FTIR (Hitachi, Japão) por meio de acessório de ATR. Os espectros de varredura foram obtidos no infravermelho médio de 3800 a 650 cm^{-1} e comparados com o espectro do padrão de referência oficial fornecido pela *U.S. Pharmacopeia*.

4.2.1.8 Determinação do perfil calorimétrico da sinvastatina

O perfil calorimétrico da sinvastatina foi determinado por calorimetria exploratória diferencial com o auxílio do equipamento DSC (Mettler Toledo, USA).

As amostras foram pesadas, dispostas em cadinho de alumínio, e submetidas à taxa de aquecimento de 10°C/min, na faixa de 25°C a 180°C, sob fluxo de nitrogênio de 25 mL/min. Os termogramas obtidos foram integrados com auxílio do software STARe.

4.2.1.9 Análises por difração de raios X

Os experimentos foram realizados em difractômetro de raios X, modelo XRD - 6000 (Shimadzu, Japão), operando a 40 kV e 30 mA utilizando radiação Cu ($k = 0,15418$ nm). As amostras foram posicionadas sobre um suporte de amostras em alumínio e as medições foram realizadas para estimar a cristalinidade. Os dados foram registrados no modo de reflectância na faixa 5-40° na velocidade de 1 min⁻¹ (JUN et al., 2007).

4.2.2 Estudo de interação fármaco – excipiente

4.2.2.1 Avaliação da compatibilidade química entre a sinvastatina e os excipientes da formulação

Misturas binárias de sinvastatina e cada excipiente da formulação foram preparadas na proporção 1:1 (*p/p*). As misturas foram depositadas em cadinhos de alumínio, e o perfil calorimétrico foi determinado empregando o equipamento de DSC-TG STARe (Mettler Toledo, USA), aplicando-se taxa de aquecimento de 10°C/min, de 25°C a 180°C, sob fluxo de nitrogênio de 25 mL/min.

4.2.2.2 Influência dos excipientes da formulação na solubilidade da sinvastatina

A influência dos excipientes da formulação na solubilidade da sinvastatina foi executada realizando-se misturas do fármaco com cada excipiente em diferentes proporções, compreendendo as quantidades usuais na formulação.

Foram realizadas misturas de sinvastatina e BHA nas proporções de 0,02%, 1%, 5% e 50% (p/p) de BHA; sinvastatina e os ácidos cítrico e ascórbico, separadamente, nas proporções de 1,0%, e 50% (p/p); sinvastatina e celulose microcristalina, amido pré-gelatinizado, lactose monohidratada e talco, separadamente, na proporção de 50% (p/p); sinvastatina com estearato de magnésio, *opadry* e dióxido de titânio, separadamente, nas proporções de 1,0% e 50% (p/p)

Vinte miligramas de cada mistura, quantidade suficiente para saturar o meio de solubilização, foram adicionados a frascos distintos com 100 mL de capacidade, com tampa, contendo 40 mL de água purificada. Os frascos foram adaptados ao equipamento, a temperatura ajustada para $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e agitados em 250 rpm por 24 horas. Ao término deste período, uma alíquota de cada frasco foi coletada e centrifugada a 3500 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi diluído na proporção 1:1 v/v com diluente (tampão fosfato de potássio 10 mM pH 4,0 e acetonitrila (3:2 v/v)), transferido para um vial transparente e quantificado por CLAE, como descrito em 4.2.1.2.

4.2.3 Avaliação da taxa de dissolução de comprimidos de sinvastatina manufaturados com diferentes fornecedores de IFA

A taxa de dissolução dos comprimidos obtidos a partir de cinco fornecedores distintos do IFA sinvastatina foi avaliada por meio de perfil de dissolução em dissolutor Sotax modelo AT7 Smart semiautomático (Westborough, USA) empregando aparato II (pás) e em dissolutor de célula de fluxo Sotax modelo CE7 Smart (Westborough, MA, USA).

4.2.3.1 Desenvolvimento do método para a quantificação de sinvastatina no teste de perfil de dissolução

Os parâmetros otimizados para o método cromatográfico são os seguintes:

- Fase Móvel:
Solução A: Tampão acetato de amônio pH 5,0 (30%)
Solução B: Acetonitrila (70%)
- Fluxo: 0,4 mL/min;
- Detector: UV 237 nm;
- Volume injetado: 4 µL;
- Temperatura: 40°C;
- Coluna: Acquity BEH C18 5,0 x 2,1 mm, 1,7 µm;
- Tempo de corrida: 2,1 min

4.2.3.2 Validação do método de quantificação das amostras de perfil de dissolução

A validação do método analítico foi executada de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 e de acordo com o capítulo geral 1092 da *United States Pharmacopeia* 37.

4.2.3.2.1.1 Seletividade

Quantidades de placebo equivalentes a um comprimido foram submetidas ao ensaio de dissolução nos meios TFS pH 7,0 + 0,50% de LSS, FaSSGF, FaSSIF e SCoF, e analisadas por CLAE-DAD. A ausência de picos oriundos da matriz ou do meio de dissolução no tempo de retenção do ativo confirma a seletividade do método analítico desenvolvido.

Uma solução padrão de sinvastatina a 88,8 µg/mL no meio de dissolução TFP pH 7,0 + 0,50% de LSS foi preparada e avaliada com detector de arranjo de fotodiodos com o intuito de avaliar a pureza do pico do ativo.

4.2.3.2.1.2 Linearidade

Para avaliar a linearidade do método em questão, preparou-se uma solução estoque em metanol com 222 µg/mL de sinvastatina substância química de referência (SQR). A partir da solução estoque, foram preparadas por diluição 13 soluções de diferentes níveis de concentração, utilizando como diluente o meio de dissolução TFS pH 7,0 + 0,50% LSS, conforme indicado na Tabela 8.

TABELA 8 – VOLUMES PIPETADOS E CONCENTRAÇÕES CORRESPONDENTES PARA A ANÁLISE DE LINEARIDADE DE SINVASTATINA.

Balão	Amostra				Volume Pipetado (mL)	Balão Vol. (mL)	Solução (µg/mL)
	% ¹ (10 mg)	% ² (20 mg)	% ³ (40 mg)	% ⁴ (80 mg)			
1	20	10	5	2,5	1,0	100	2,2
2	40	20	10	5	1,0	50	4,4
3	80	40	20	10	1,0	25	8,9
4	120	60	30	15	1,5	25	13,3
5	-	80	40	20	2,0	25	17,8
6	-	100	50	25	2,0	20	22,2
7	-	120	60	30	3,0	25	26,6
8	-	-	80	40	4,0	25	35,5
9	-	-	100	50	5,0	25	44,4
10	-	-	120	60	2,4	10	53,3
11	-	-	-	80	3,2	10	71,0
12	-	-	-	100	4,0	10	88,8
13	-	-	-	120	4,8	10	106,6

%¹ = equivalente a % de ativo na solução amostra de comprimidos com 10 mg de Sinvastatina.

%² = equivalente a % de ativo na solução amostra de comprimidos com 20 mg de Sinvastatina.

%³ = equivalente a % de ativo na solução amostra de comprimidos com 40 mg de Sinvastatina.

%⁴ = equivalente a % de ativo na solução amostra de comprimidos com 80 mg de Sinvastatina.

FONTE: O AUTOR, 2014.

4.2.3.2.1.3 Precisão e Exatidão

A precisão foi avaliada em dois níveis, repetibilidade e precisão intermediária. Na repetibilidade, avaliou-se o desvio padrão relativo de determinações em concentrações altas, médias e baixas da concentração em teste, com três réplicas cada, contemplando o intervalo linear do procedimento.

A precisão intermediária foi verificada através da análise de dois testes de dissolução com seis unidades cada, pertencentes ao mesmo lote do medicamento de referência Zocor® 80 mg, cuja faixa de uniformidade de conteúdo foi previamente determinada. Cada teste, assim como o meio de dissolução e a solução padrão, foram preparados e realizados em dias diferentes e por analistas diferentes.

A exatidão foi calculada como porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionada ao placebo, com três determinações em cada nível de concentração alta, média e baixa da concentração em teste, contemplando o intervalo linear do procedimento.

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental} \times 100}{\text{concentração teórica}}$$

EQUAÇÃO 2 – CÁLCULO DA RECUPERAÇÃO

Para cada concentração, pesou-se a quantidade de placebo presente no comprimido correspondente a 100%. Cada concentração foi preparada em triplicata, segundo Tabela 9.

TABELA 9 – INSTRUÇÕES PARA PREPARO DAS AMOSTRAS DOS PARÂMETROS REPETITIVIDADE E EXATIDÃO DE SINVASTATINA

Concentração	µg/mL	%*	Massa de Ativo (mg)	Massa de placebo (mg)
Baixa	2,22	20,0	2,0	835,0
Média	71,11	80,0	64,0	835,0
Alta	106,66	120,0	96,0	835,0

* % = equivalente à porcentagem de ativo presente na formulação.

FONTE: O AUTOR, 2014.

O placebo foi disperso nas cubas do dissolutor contendo meio de dissolução juntamente com o padrão de sinvastatina pesado conforme descrito na Tabela 9 para atingir a quantidade de massa correspondente às concentrações baixa, média e alta de princípio ativo, submetidas ao ensaio de dissolução.

Após a finalização do ensaio, alíquotas de cada cuba foram filtradas e transferidas para vials e injetadas no cromatógrafo.

4.2.3.2.1.4 Robustez

A robustez do método foi avaliada através da análise de amostras de dissolução do teste de precisão, correspondentes a concentração de 100% do analito, frente às seguintes alterações arbitrárias no método de quantificação: mudança no lote da coluna utilizada Acquity BEH C18 2,1 x 50 mm, 1,7 μ m Lote 01963112255-72 para Lote 09831291157-15, fluxo da fase móvel de 0,40 mL/min para 0,35 mL/min e 0,45 mL/min, temperatura do forno de 40°C para 35°C e 45°C e composição da fase móvel de tampão acetato de amônio pH 4,5 : acetonitrila (30:70 v/v) para tampão acetato de amônio pH 4,5:acetonitrila (32:68 v/v) e tampão acetato de amônio pH 4,5:acetonitrila (28:72 v/v).

4.2.3.3 Análise de perfil de dissolução em aparato II (pás)

O perfil de dissolução dos comprimidos de sinvastatina em dissolutor aparato II foi avaliado empregando metodologia descrita na monografia de sinvastatina comprimidos da *U.S. Pharmacopeia 37*, conforme parâmetros descritos abaixo:

- Meio de dissolução: Tampão fosfato de Sódio pH 7,0 + 0,5% LSS, 900mL;
- Aparato: pá
- Tempo de coleta: 2, 5, 7, 10, 15, 20 e 30 min;
- Agitação: 50 rpm;
- Temperatura: 37°C;
- Volume de Coleta: 10 mL;
- Filtro: PET 0,22 μ m.

As amostras foram quantificadas por método cromatográfico validado, empregando cromatógrafo a líquido de ultra eficiência Acquity H Class (Waters, Millford, MA, USA).

4.2.3.4 Análise de perfil de dissolução em aparato IV (célula de fluxo)

O perfil de dissolução em célula de fluxo foi avaliado de forma a simular o estado de jejum. Os parâmetros do teste encontram-se descritos abaixo:

- Célula: 22,6 mm de diâmetro;

- Filtro: microfibras de vidro de 0,22 µm de abertura de poro;
- Fluxo: 8 mL/min, laminar com *holder*;
- Meios de dissolução:
 1. Fluido gástrico simulando estado de jejum (FaSSGF): coletas em 10, 20 e 30 min;
 2. Fluido intestinal simulando estado de jejum (FaSSIF): coletas em 50, 70, 90, 110, 130, 150, 180, 210, 250, 300, 350 e 400 min;
 3. Fluido colônico simulado (SCoF): coletas em 450, 510 e 570 min;
- Tempo total de análise: 570 min;

A composição de cada meio de dissolução está descrita na Tabela 10.

TABELA 10 – COMPOSIÇÃO DOS MEIOS DE DISSOLUÇÃO EMPREGADOS NO PERFIL DE DISSOLUÇÃO EM APARATO IV.

Composição	FaSSGF	FaSSIF	SCoF
Taucorolato de sódio (µM)	80,0	3,0	-
Lecitina (µM)	20,0	0,2	-
Pepsina (mg/mL)	0,1	-	-
Cloreto de sódio (mM)	34,2	68,6	-
Ácido maleico (mM)	-	19,1	-
Hidróxido de sódio (mM)	-	34,8	157,0
Ácido Acético (mM)	-	-	170,0
Ácido clorídrico q.s.p.	pH 1,6	-	-
Propriedades			
pH	1,6	6,5	5,8
Osmolaridade (mOsm/kg)	120,7 ± 2,5	180 ± 10	295,0
Capacidade tamponante (mmol/L/pH)	-	10,0	29,1
Tensão superficial (mN/m)	42,6	-	-

FONTE: MARQUES, 2011.

As amostras obtidas foram quantificadas por método cromatográfico validado, empregando cromatógrafo a líquido de ultra eficiência Acquity H Class (Waters, Millford, MA, USA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DO FÁRMACO SINVASTATINA

5.1.1 Solubilidade em equilíbrio da sinvastatina

De acordo com a RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010 que atualiza regras para estudos de Equivalência farmacêutica e perfil de dissolução e a Nota Técnica nº 003 de 2013, que dispõe sobre a avaliação da solubilidade de fármacos e o desenvolvimento de métodos de dissolução para estudos de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução comparativo é necessário avaliar a solubilidade da substância ativa em pelo menos três meios diferentes dentro da faixa de pH fisiológico. Desta forma, este ensaio foi realizado em água purificada e em meios mimetizando a faixa fisiológica: fluido gástrico simulado (FGS) pH 1,2, tampão acetato de sódio (TAS) pH 4,5 e tampão fosfato de sódio (TFS) pH 7,0. Uma vez que a sinvastatina é praticamente insolúvel em água, foram testados também os meios TFS 7,0 contendo 0,25% e 0,50% (p/v) de lauril sulfato de sódio (LSS) e 0,25% e 0,50% (p/v) de polissorbato 80.

A curva de calibração para quantificação das amostras de solubilidade de sinvastatina se apresentou adequada para a finalidade proposta, uma vez que o coeficiente de correlação foi superior a 0,99, indicando que há correlação entre as variáveis área e concentração da amostra. Os resultados da regressão linear 1/X, obtida conforme descrito em 4.2.1.2, podem ser visualizados na Tabela 11. A equação 3 traz a equação da reta obtida.

A solubilidade em equilíbrio de cinco lotes do ativo sinvastatina, oriundos de fornecedores distintos, foi avaliada em água e em meios mimetizando a faixa fisiológica, conforme descrito em 4.2.1.1.

$$y = 90296 x + 16826$$

EQUAÇÃO 3 – EQUAÇÃO DA RETA

TABELA 11 – INCLINAÇÃO, INTERCEPTO E COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO DE SINVASTATINA

Conc. (µg/mL)	Área (Au)	Média Área	Inclinação
0,99	101985	102043	90296,4318
	102100		
1,98	202281	200655	Intercepto
	199028		
3,96	378148	376686	16825,9431
	375224		
4,95	460234	460500	Coeficiente de correlação
	460766		
9,90	910951	910902	0,9999
	910853		

FONTE: O AUTOR, 2014.

A solubilidade intrínseca de um determinado composto pode ser definida como a solubilidade em equilíbrio do ácido ou da base livre de um composto ionizável, em um pH em que este se encontre completamente não ionizado (LARSSON, 2009). Considerando suas propriedades físico-químicas, a sinvastatina apresenta-se não ionizada em água e nos valores de pH de 1,2 a 7,0, que compreendem a faixa fisiológica.

A análise da solubilidade em equilíbrio reportada na Tabela 12 demonstrou que a sinvastatina é praticamente insolúvel em água, conforme já relatado na literatura (ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2011; TAUPITZ; DRESSMAN; KLEIN, 2013), uma vez que é necessário 1 litro de água para solubilizar cerca de apenas 2 mg de sinvastatina.

TABELA 12 – SOLUBILIDADE EM ÁGUA DE DIFERENTES LOTES DE SINVASTATINA, OBTIDA A PARTIR DO MÉTODO DO EQUILÍBRIO

Fornecedor	Lote	Solubilidade Média (µg/mL)	DPR (%)
1	326262	2,71	1,28
2	383462	2,72	2,17
3	327680	2,14	1,15
4	570419	1,97	3,48
5	522006	2,04	3,11

FONTE: O AUTOR, 2014.

A análise por *Anova One-Way* permitiu concluir que os diferentes lotes de sinvastatina oriundos de fornecedores distintos apresentaram solubilidade em água estatisticamente diferente, uma vez que as médias de solubilidade dos fornecedores 1 e 2 não estão contidas no intervalo de confiança de 95% das médias dos fornecedores 3, 4 e 5, o que pode ser visualizado na Figura 6, obtida com o *software* estatístico Minitab®, na qual os intervalos que não se sobrepõem são diferentes.

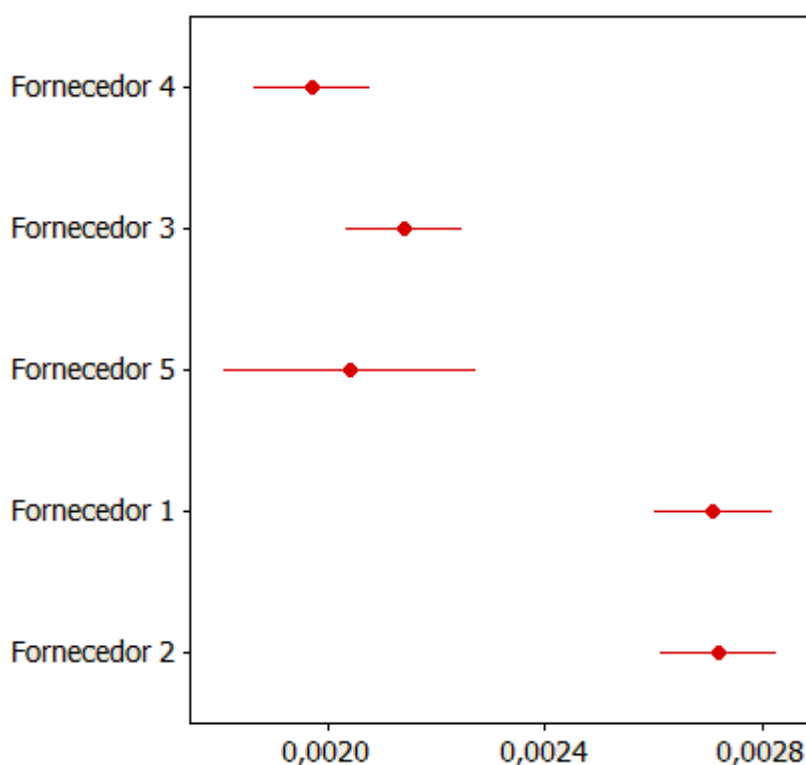


FIGURA 6 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DE SOLUBILIDADE EM ÁGUA DE SINVASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, OBTIDA PELO SOFTWARE MINITAB. FONTE: O AUTOR, 2014.

Diversos são os fatores que influenciam a solubilidade de fármacos como A natureza química, tamanho de partícula, área superficial, hábito cristalino, presença de polimorfismo e presença de contaminantes ou impurezas; polaridade, pH do meio e volume de solvente empregado; e temperatura e pressão (BEHERA, 2010).

Considerando que as variáveis inerentes ao solvente e ao meio externo foram mantidas constantes, a diferença na solubilidade verificada entre os diversos lotes do mesmo ativo pode ser explicada pelas possíveis diferenças existentes na estrutura cristalina do composto em questão, ou na presença de contaminantes que possam influenciar na interação entre soluto e solvente.

A estrutura cristalina de determinado sólido exerce efeito direto em sua solubilidade. Para que um sólido se dissolva, as forças de atração entre o soluto e o solvente devem ser superiores às forças atrativas que mantêm o sólido intacto. O balanço entre estas forças determinará a solubilidade em equilíbrio deste sólido. Diferentes estruturas cristalinas apresentam diferentes energias atrativas, e desta forma apresentarão solubilidades distintas. O efeito do polimorfismo se torna especialmente crítico ao se considerar que taxas de dissolução distintas das diferentes estruturas de uma mesma entidade química podem levar a diferentes graus de biodisponibilidade para cada polimorfo ou solvato (BRITTAIN, 2009).

A solubilidade em equilíbrio de um fármaco desempenha um papel importante na sua dissolução a partir de uma forma farmacêutica sólida (SILVA & VOLPATO, 2002). Logo, é fundamental conhecer a solubilidade da sinvastatina em diferentes solventes, de modo a selecionar meios de dissolução adequados para as formulações que a contenham. O resultado da solubilidade intrínseca em meios compreendendo a faixa de pH fisiológico está disposto na Tabela 13.

De modo semelhante ao observado na solubilidade em água, os lotes de sinvastatina oriundos dos fornecedores 1 e 2 apresentaram solubilidade superior aos lotes oriundos dos fornecedores 3, 4 e 5 em diferentes valores de pH e quantidades de tensoativo, sendo essa diferença estatisticamente significativa.

Conforme relatado na literatura (ACEVES-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011; TAUPITZ *et al.*, 2013), a sinvastatina demonstrou-se praticamente insolúvel em água e em soluções com pH compreendendo a faixa fisiológica. Desta forma, justifica-se a utilização de tensoativos nos meios de dissolução para que ocorra a solubilização do ativo, sem que ocorra saturação do meio.

Na ausência de tensoativos, cerca de 35 a 47 litros de meio são necessários para solubilizar uma dose de 80 mg de sinvastatina. Com o acréscimo de tensoativos, este volume em geral é reduzido para menos de dois litros. O LSS demonstrou ser um tensoativo mais eficiente na solubilização da sinvastatina do que o polissorbato 80, pois, quando utilizados nas mesmas quantidades, maior incremento na solubilidade do fármaco foi observado com o uso do LSS.

TABELA 13 – SOLUBILIDADE DOS DIFERENTES LOTES DE SINVASTATINA EM DIFERENTES MEIOS COM DIFERENTES VALORES DE pH E QUANTIDADES DE TENSOATIVOS

Meio de dissolução	Fornecedor do IFA	Solubilidade (µg/mL)	DPR (%)	Razão Dose ¹ / Solubilidade
FGS pH 1,2	1	2,14	4,32	37383
	2	2,12	2,58	37795
	3	1,77	2,25	45283
	4	1,72	3,99	46512
	5	1,74	3,35	45977
TAS pH 4,5	1	2,18	3,15	36980
	2	2,21	2,98	36254
	3	1,79	4,15	44610
	4	1,73	2,18	46164
	5	1,77	1,96	45283
TFS pH 7,0	1	2,20	4,68	36419
	2	2,22	2,26	36036
	3	1,82	3,45	44037
	4	1,76	3,12	45541
	5	1,79	2,47	44610
TFS pH 7,0 + 0,25% LSS (p/v)	1	72,02	3,14	1111
	2	72,25	2,99	1107
	3	68,24	1,64	1172
	4	67,61	2,18	1183
	5	67,96	3,12	1177
TFS pH 7,0 + 0,50% LSS (p/v)	1	326,88	1,85	245
	2	323,94	1,56	247
	3	282,53	1,19	283
	4	273,70	2,06	292
	5	277,32	1,25	288
TFS pH 7,0 + 0,25% Polisorbato 80 (p/v)	1	48,54	2,17	1648
	2	49,30	2,05	1623
	3	39,85	3,12	2008
	4	40,67	1,91	1967
	5	39,99	1,12	2001
TFS pH 7,0 + 0,50% Polisorbato 80 (p/v)	1	208,54	1,15	384
	2	209,30	1,08	382
	3	179,85	2,19	445
	4	176,67	2,15	453
	5	177,65	1,17	450

¹ Dose de comprimidos de 80 mg.

FONTE: O AUTOR, 2014.

5.1.2 Avaliação da pureza cromatográfica da sinvastatina

A pureza cromatográfica dos lotes de sinvastatina foi avaliada por CLAE-DAD, de acordo com método preconizado pela *British Pharmacopoeia 2014*. Todos os

lotes avaliados apresentaram perfil de impurezas semelhante e dentro dos limites especificados pela referida farmacopeia (Figura 7, Tabela 14).

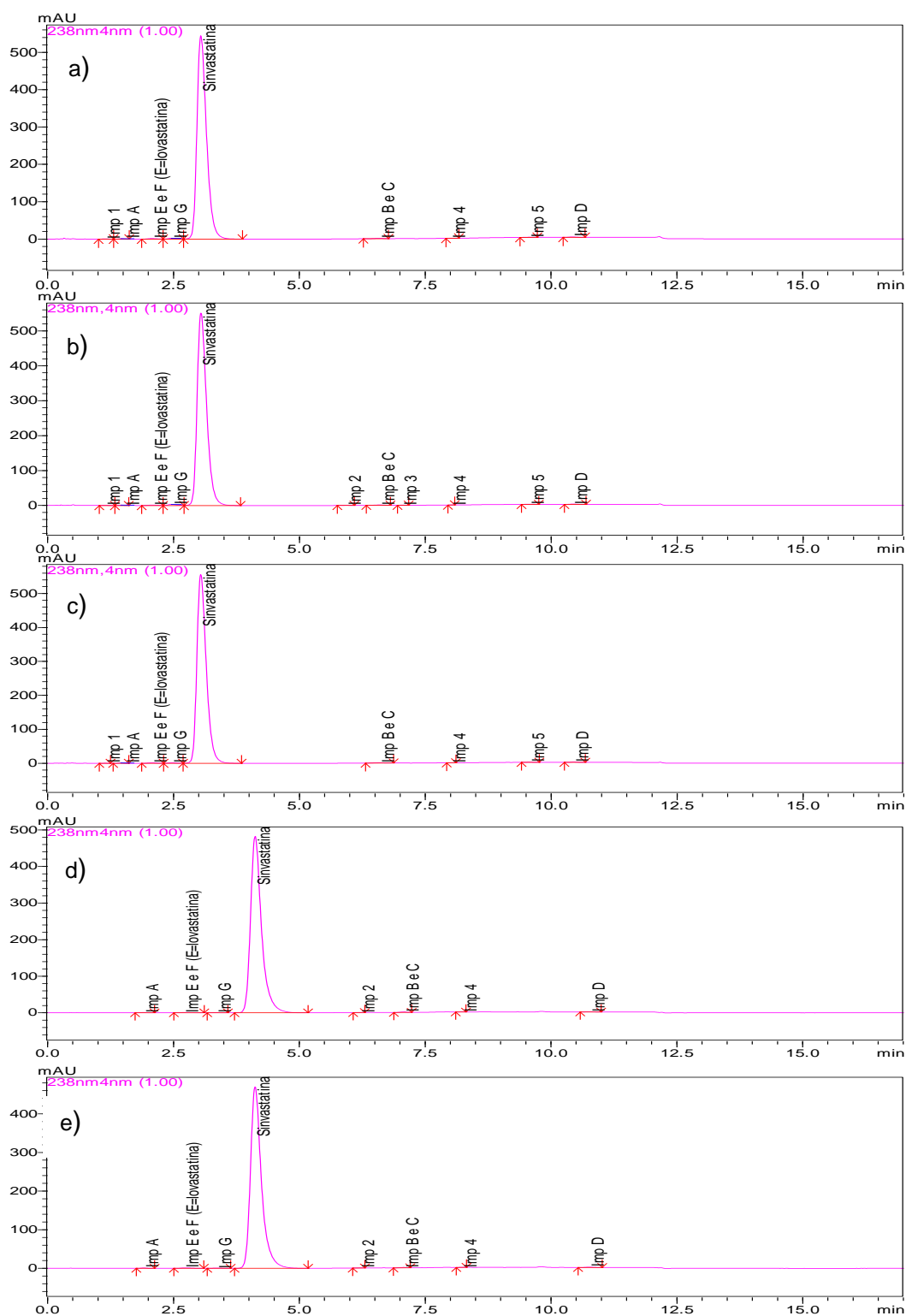


FIGURA 7 – CROMATOGRAMAS DA ANÁLISE DE SUBSTÂNCIAS RELACIONADAS DOS LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5 DE SINVASTATINA.
 FONTE: O AUTOR, 2014.

TABELA 14 – RESULTADOS E ESPECIFICAÇÕES, EM PORCENTAGEM, DA ANÁLISE DE PUREZA CROMATOGRÁFICA DE DIVERSOS LOTES DE SINVASTATINA

	Fornecedor					Especificação
	1	2	3	4	5	
Impureza A (%)	0,15	0,05	0,11	0,12	0,08	< 0,40%
Impureza E+F (%)	0,01	0,02	N/D ¹	N/D ¹	N/D ¹	< 1,00%
Impureza G (%)	0,01	0,01	0,03	0,03	0,01	< 0,40%
Impureza B+ C (%)	N/D ¹	N/D ¹	N/D ¹	N/D ¹	N/D ¹	< 0,80%
Impureza D (%)	0,05	0,02	0,08	0,03	0,05	< 0,40%
Impureza inespecífica 1 (%)	0,01	0,01	N/D ¹	N/D	N/D	< 0,10%
Impureza inespecífica 2 (%)	N/D	0,01	N/D	0,02	0,01	< 0,10%
Impureza inespecífica 3 (%)	N/D	0,02	N/D	N/D	N/D	< 0,10%
Impureza inespecífica 4 (%)	N/D ¹	N/D ¹	0,01	0,01	0,01	< 0,10%
Impureza inespecífica 5 (%)	0,01	0,01	N/D ¹	N/D	N/D	< 0,10%
Impurezas Totais	0,24	0,15	0,23	0,21	0,16	< 1,00%

N/D = não detectada

N/D¹ = abaixo do limite de quantificação

FONTE: O AUTOR, 2014.

Considerando que todos os lotes avaliados apresentaram perfis cromatográficos semelhantes e graus de pureza elevado, a hipótese de que a diferença verificada na solubilidade dos diversos lotes resida na presença de impurezas ou contaminantes pode ser descartada.

5.1.3 Determinação da distribuição granulométrica da sinvastatina

Conforme os resultados apresentados na Figura 8, os diferentes lotes de sinvastatina avaliados apresentaram distribuições granulométricas distintas. O tamanho de partícula exerce reconhecida influência na velocidade de dissolução e, consequentemente, na biodisponibilidade da substância ativa. Liu (2008) recomendou que para fármacos fracamente solúveis o tamanho de partícula deve ser reduzido para elevar a dissolução *in situ*. Geralmente, deve-se reduzir o tamanho de partícula de tal forma que 90% sejam menores do que 30 µm e destes pelo menos 50% seja menores do que 10 µm.

Três dos lotes se demonstraram micronizados, com tamanho de partícula inferior a 10 µm, e dois deles empregaram uma faixa um pouco mais alta com comportamento bimodal.

Apesar de ter sido verificada uma redução na solubilidade em água com o aumento no tamanho das partículas de sinvastatina, a análise de regressão linear

1/X obtida através do *software* Minitab® (Figura 9) mostrou, com 95% de confiança, que não há correlação estatisticamente significativa entre estas variáveis, uma vez que o valor de R^2 ajustado foi de 44,01%, e o p-valor obtido para o modelo de regressão linear foi de 0,1346, superior ao nível de significância de 0,05.

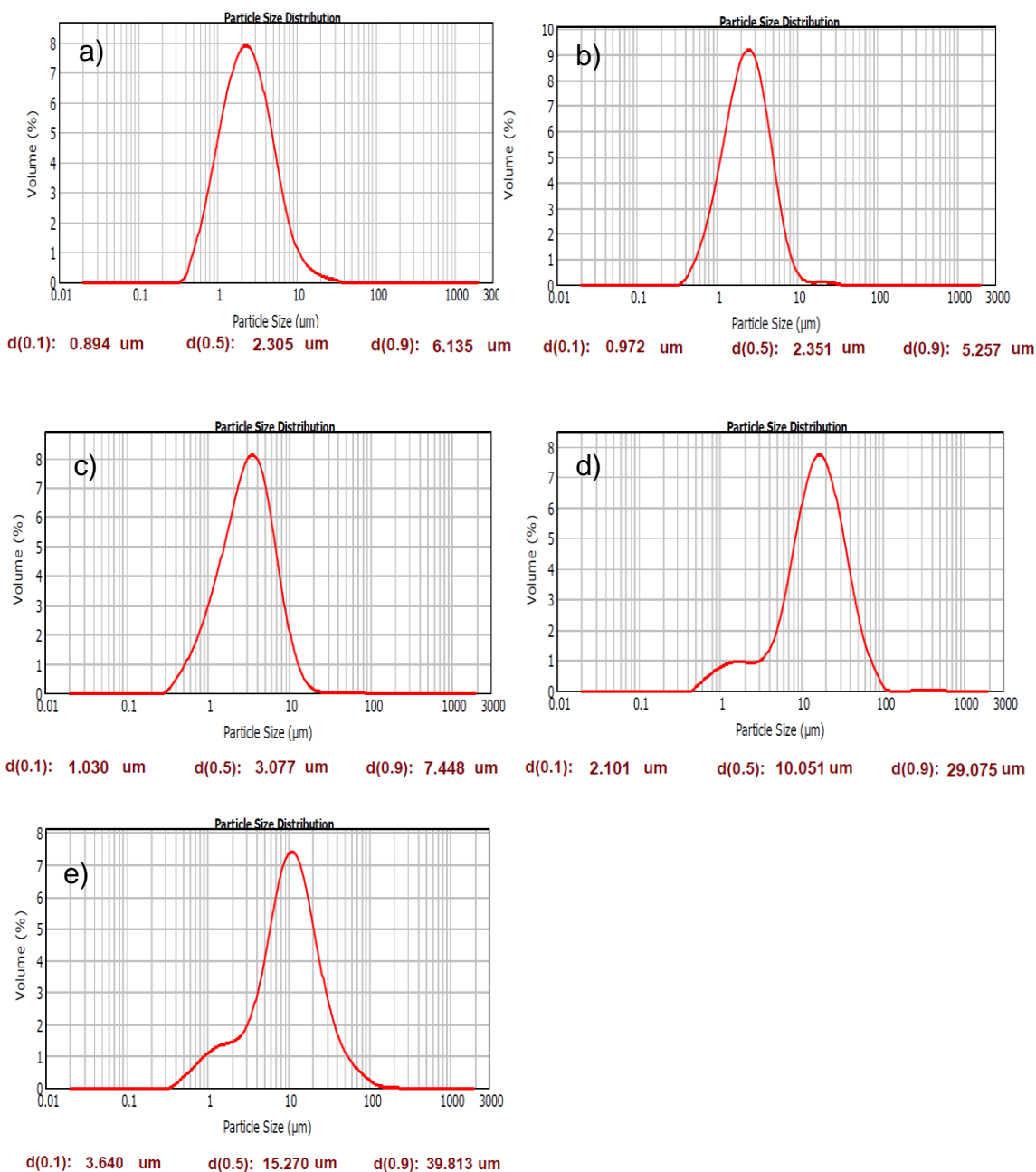


FIGURA 8 – PERFIL GRANULOMÉTRICO DA SINVASTATINA LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5.
FONTE: O AUTOR, 2014.

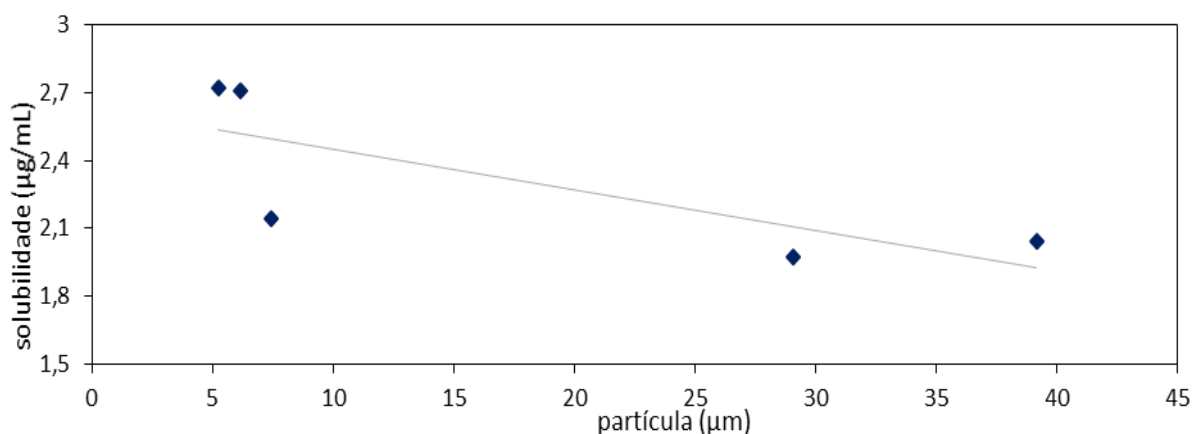


FIGURA 9 – GRÁFICO DE REGRESSÃO LINEAR PARA “SOLUBILIDADE” VS “TAMANHO DE PARTÍCULA” OBTIDO COM O SOFTWARE MINITAB® 16

FONTE: O AUTOR, 2014.

5.1.4 Análises por microscopia óptica e de luz polarizada

Luz polarizada é a luz em que todos os feixes vibram em apenas um plano. O microscópio de luz polarizada possui dois discos de plástico polarizante, que permitem que a luz vibrando em apenas um plano passe. A disposição dos discos é tal que nenhuma luz pode ser visualizada nas lentes oculares, a menos que um objeto duplamente refringente seja posicionado no caminho da luz polarizada. Neste caso, o objeto aparecerá iluminado em contraste com um *background* escuro (DONGREE, 2007). O microscópio de luz polarizada apresenta alto grau de sensibilidade e pode ser empregado para ambas análises quali e quantitativas, direcionadas a uma ampla gama de compostos anisotrópicos (ROBINSON & DAVIDSON, 2012).

A birrefringência pode ser formalmente definida como a dupla refração da luz em um material transparente, molecularmente ordenado, que se manifesta pela existência de diferenças orientação-dependentes no índice de refração. (MURPHY, 2012).

Cristais podem ser classificados como isotrópicos ou anisotrópicos dependendo de seu comportamento óptico e se seus eixos cristalográficos são equivalentes ou não. Todos os cristais isotrópicos possuem eixos equivalentes que interagem com a luz de uma maneira semelhante, independentemente da orientação do cristal a respeito da incidência de feixes de luz. A luz que penetra um cristal isotrópico é refratada a um ângulo constante, e passa através do cristal em uma

velocidade única sem ser polarizada pela interação com os componentes eletrônicos da rede cristalina (MURPHY, 2012).

O termo anisotropia refere-se a propriedades de distribuição espacial não uniformes, o que resulta na obtenção de diferentes valores quando a amostra é analisada em diferentes direções. Cristais anisotrópicos possuem eixos cristalográficos distintos e interagem com a luz por um mecanismo dependente da orientação da rede cristalina com respeito ao ângulo de incidência de luz. Quando a luz penetra o eixo óptico de um cristal anisotrópico, se comporta de maneira similar à interação com cristais isotrópicos, e atravessa com uma velocidade única. Entretanto, quando a luz penetra em um eixo não equivalente, é refratada em dois raios, cada um polarizado com as direções da vibração orientadas a ângulos exatos um do outro (mutuamente perpendiculares) e viajando a velocidades diferentes. Este fenômeno é denominado birrefringência ou dupla refração e é exibida em graus maiores ou menores em todos os cristais anisotrópicos (MURPHY, 2012).

Uma vez que formas amorfas não apresentam estrutura ordenada e não são transparentes, a presença de campos de birrefringência em todos os lotes analisados por microscopia de luz polarizada indica que todos os lotes apresentam cristalinidade (Figura 10).

Apesar da ausência de forma de cristais bem definidos nos lotes dos fornecedores 1, 2 e 3 devido ao tamanho de partícula reduzido, a birrefringência característica de formas cristalinas anisotrópicas ainda pôde ser observada na microscopia de luz polarizada (BRITTAIN, 2009).

Os lotes dos fornecedores 3 e 4 cujos tamanhos de partícula são maiores apresentaram cristais bem definidos com forma laminar, quando observados ao microscópio óptico, enquanto que nos lotes que sofreram micronização foram visualizados apenas fragmentos sem forma definida.

Verifica-se também nos lotes dos fornecedores 4 e 5 a heterogeneidade no tamanho dos cristais, uma vez que se visualizam cristais maiores coexistindo com cristais de tamanho bem reduzido, o que explica o comportamento bimodal observado no perfil granulométrico destes lotes (Figura 8d e 8e).

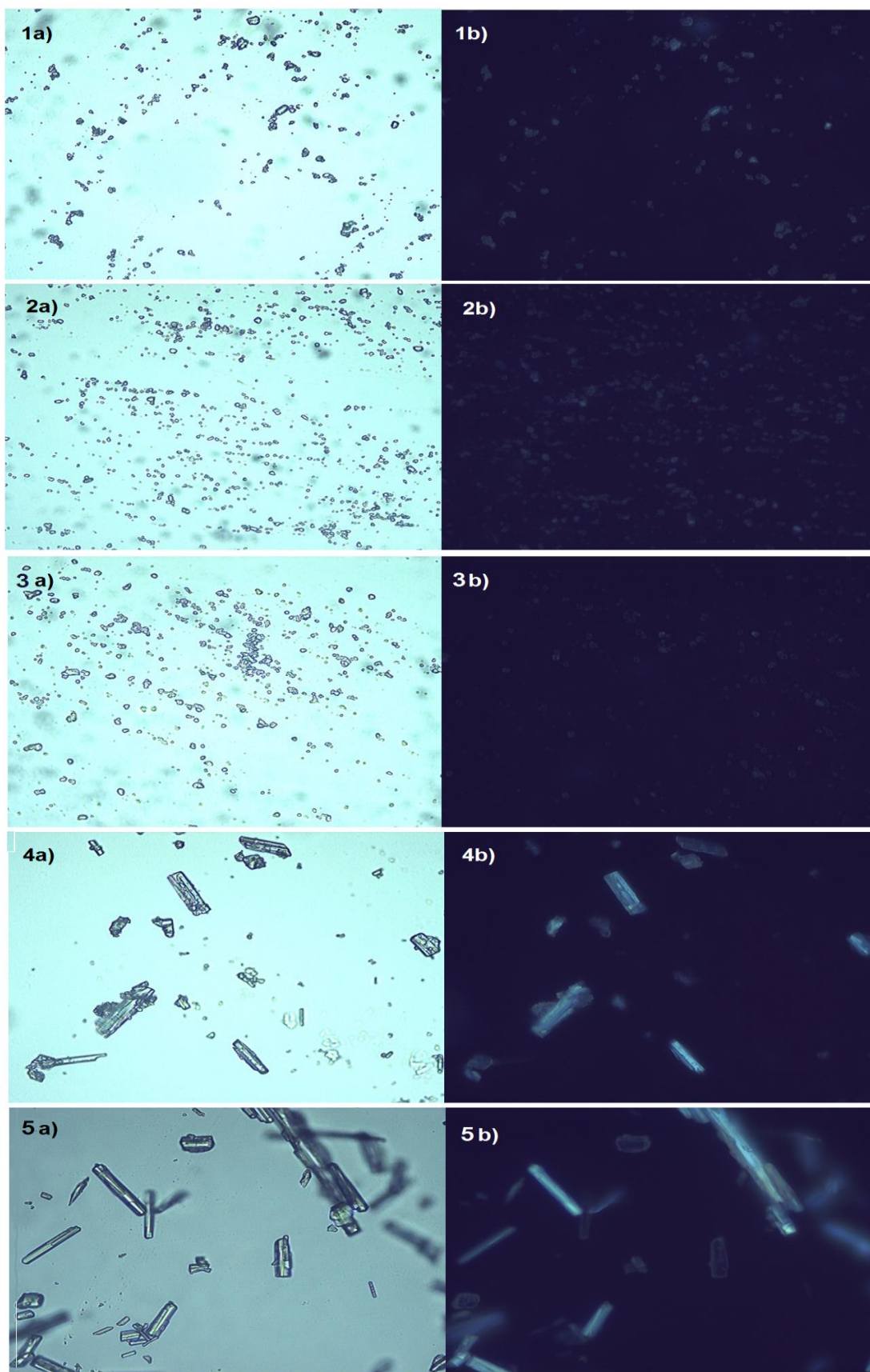


FIGURA 10 – MICROSCOPIA DOS LOTES 1) FORNECEDOR 1; 2) FORNECEDOR 2; 3) FORNECEDOR 3; 4) FORNECEDOR 4; 5) FORNECEDOR 5; AUMENTO DE 40X, a) ÓPTICA; b) LUZ POLARIZADA
FONTE: O AUTOR, 2014.

5.1.5 Análises por microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura dos cinco lotes avaliados (Figura 11) evidenciou que os lotes do fármaco com menor tamanho de partícula ($d_{90} < 10 \mu\text{m}$) não apresentaram hábito cristalino bem definido, o que pode ser resultado da fragmentação dos cristais no processo de micronização.

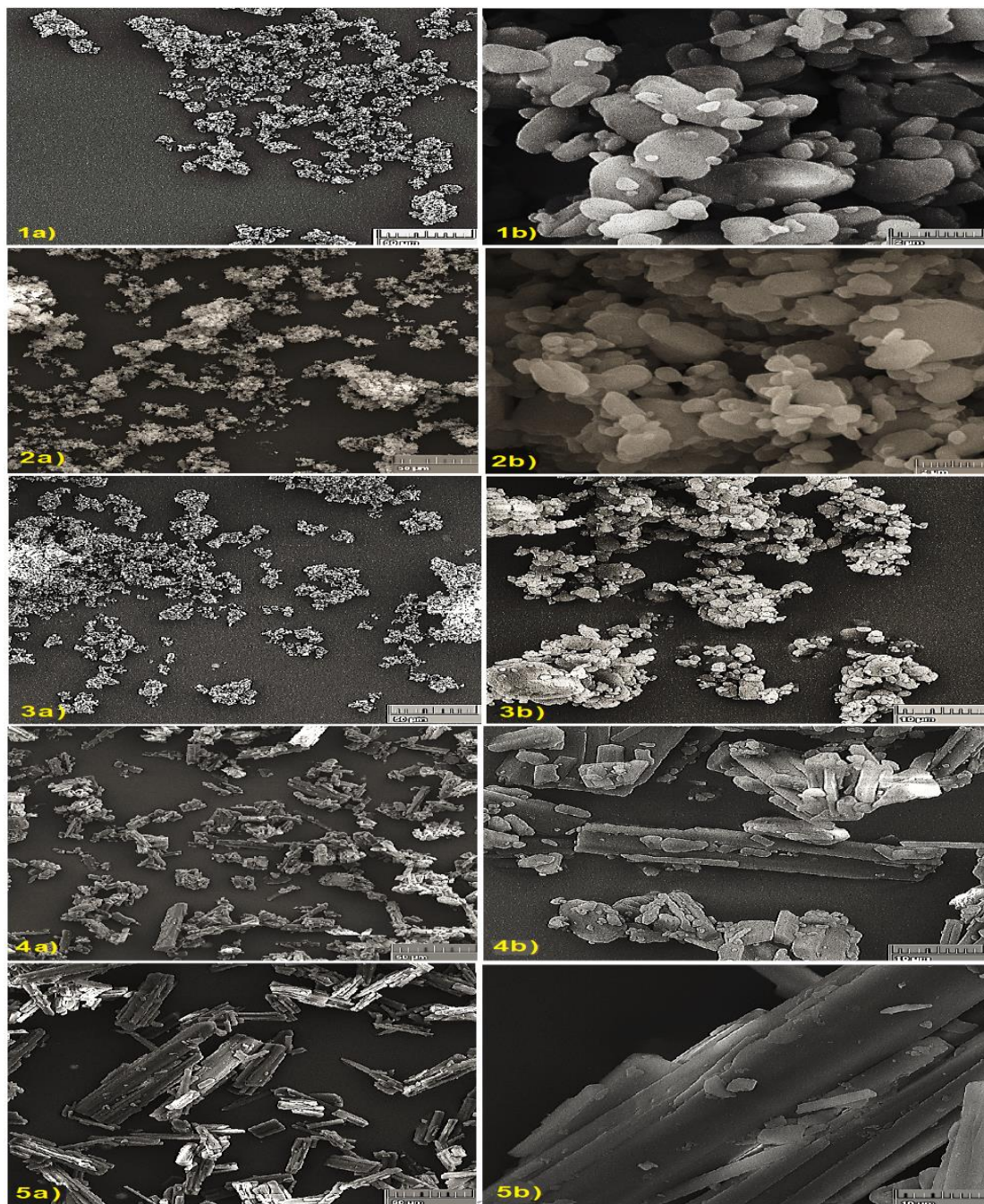


FIGURA 11 – MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DOS LOTES 1) FORNECEDOR 1; 2) FORNECEDOR 2; 3) FORNECEDOR 3; 4) FORNECEDOR 4; 5) FORNECEDOR 5; a) ESCALA DE 50 μm ; b) ESCALA DE 2 μm NAS FIGURAS 1 E 2, E DE 10 μm NAS FIGURAS 4, 5 E 6.
FONTE: O AUTOR, 2015.

Em contrapartida, os lotes dos fornecedores 4 e 5 apresentaram hábito cristalino laminar bem definido. O comportamento bimodal observado nos gráficos de distribuição granulométrica de ambos os lotes pôde ser verificado também na microscopia eletrônica, uma vez que se verificaram cristais maiores e diversos fragmentos menores. Tal amplitude de distribuição pode ser indesejável e gerar problemas com relação à uniformidade de mistura durante o processo produtivo de comprimidos.

5.1.6 Determinação do perfil calorimétrico da sinvastatina

Com o objetivo de identificar as formas polimórficas, curvas DSC foram obtidas (Figura 14) para os lotes dos fornecedores 1 a 5.

De acordo com a literatura, o perfil calorimétrico da forma polimórfica I de sinvastatina, obtido sob atmosfera de nitrogênio, apresenta um único evento endotérmico em aproximadamente 140°C (Figura 12), correspondente ao ponto de fusão da mesma. Após a fusão, a sinvastatina é termicamente estável até 230°C. Em temperaturas mais altas, dois eventos endotérmicos com consequente perda de massa podem ser visualizados, característicos de decomposição térmica (SOVIZI, 2013).

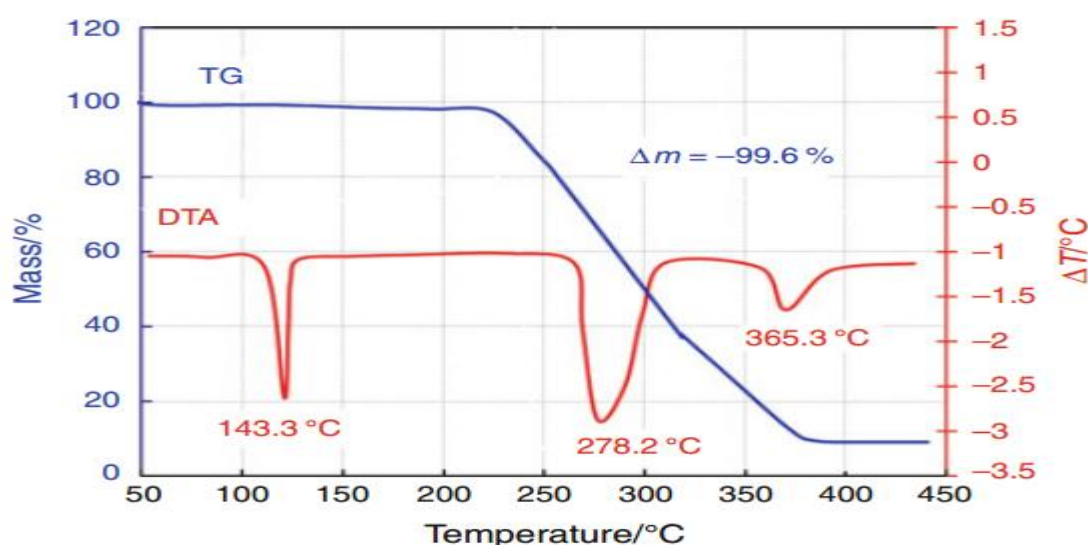


FIGURA 12 – CURVAS DE DTA E TG DA SINVASTATINA FORMA POLIMÓRFICA I
FONTE: SOVIZI (2013)

A temperatura de fusão da sinvastatina independe do taxa de aquecimento (SOVIZI, 2013). Em contraste, o termograma deste composto obtido com taxa de aquecimento de 2°C/min em ar (Figura 13) apresenta um evento exotérmico em aproximadamente 128°C, o qual é atribuído a reações oxidativas que ocorrem em contato com o oxigênio do ar (BRITTAİN, 2002).

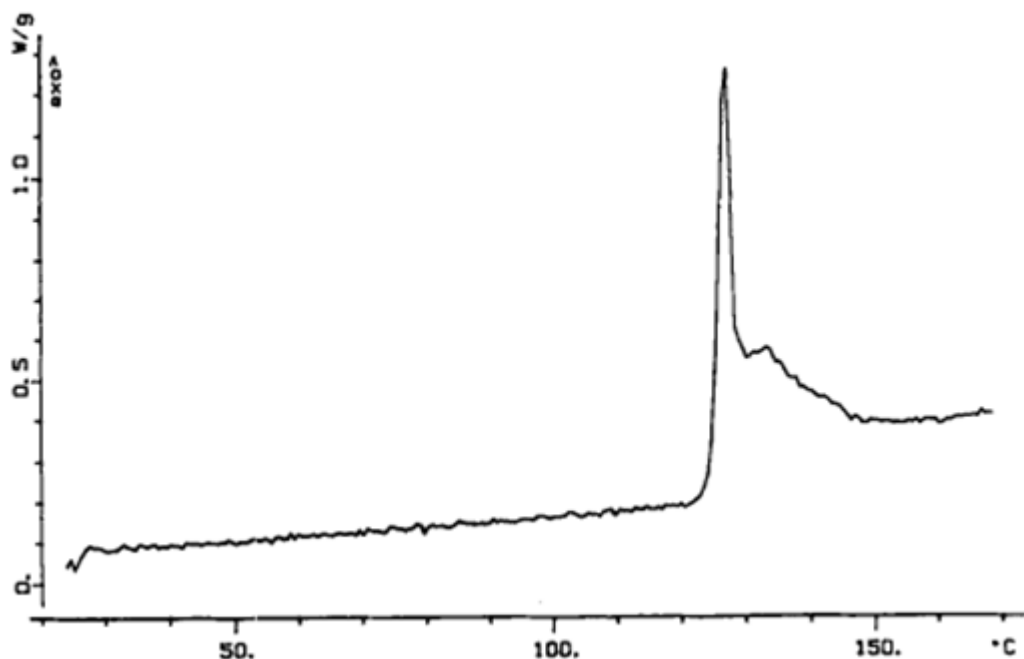


FIGURA 13 – TERMOGRAMA DA SINVASTATINA OBTIDO COM TAXA DE AQUECIMENTO DE 2°C/MIN, EM AR.
FONTE: BRITTAİN (2002)

O perfil calorimétrico de todos os lotes avaliados apresentou um único evento endotérmico de fusão em aproximadamente 140°C (Figura 14) com entalpia de cerca de 70 a 76 J/g, compatível com a forma polimórfica I, a única forma cristalina da sinvastatina estável à temperatura ambiente, conforme relatado na literatura (HUŠÁK et al., 2010; SOVIZI, 2013; SOUZA et al., 2007).

Apesar da diferença significativa na solubilidade em água e em diversos meios com diferentes valores de pH, todos os lotes avaliados aparentemente são cristalinos e compatíveis com a forma polimórfica I.

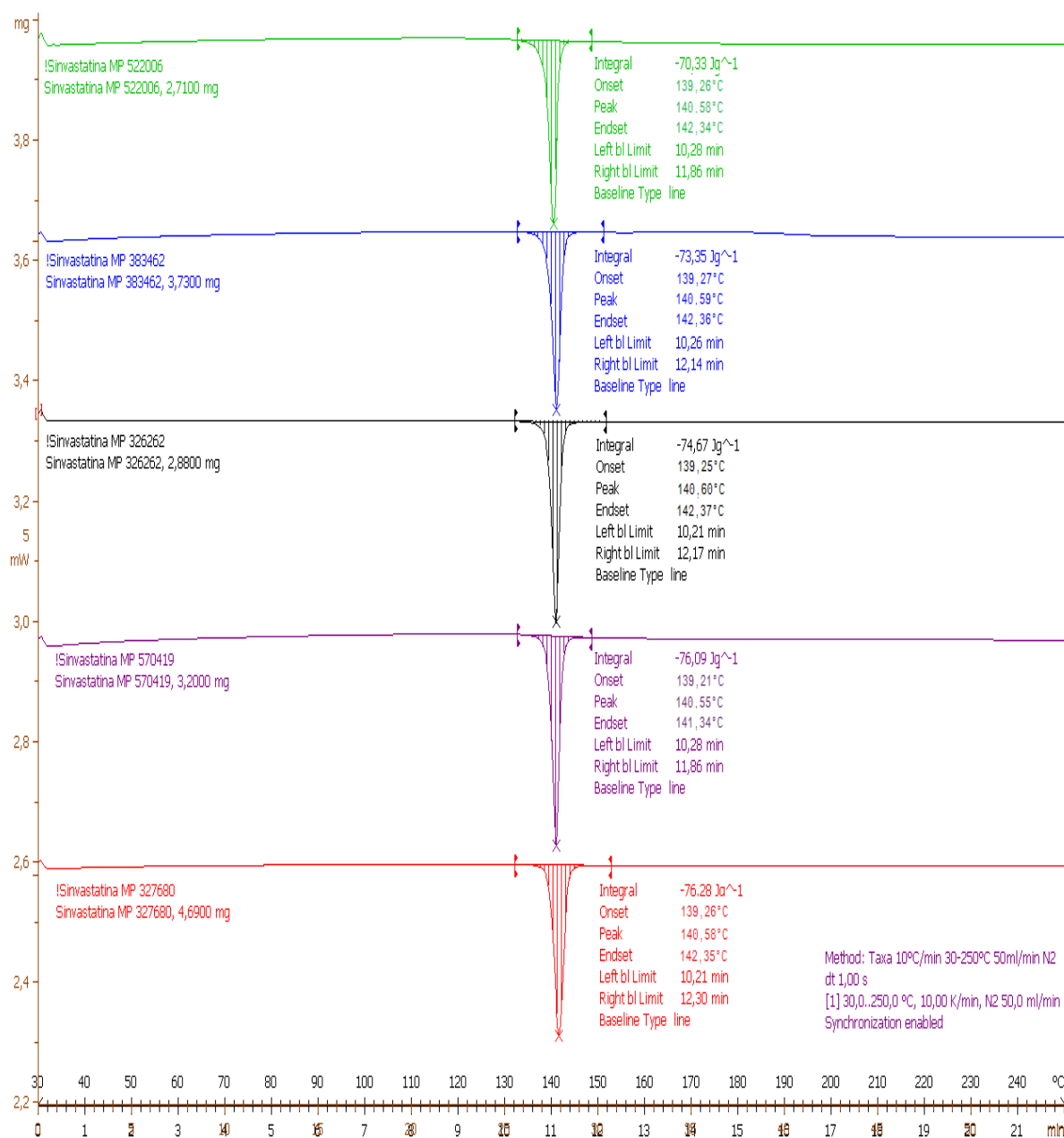


FIGURA 14 – CURVAS DSC DE SINVASTATINA DOS FORNECEDORES 1, 2, 3, 4 E 5, SOB ATMOSFERA DE NITROGÊNIO E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C POR MINUTO. FONTE: O AUTOR, 2014.

5.1.7 Análises por infravermelho médio

O espectro de infravermelho de simvastatina nas formas cristalina e amorfa apresenta diferenças significativas nas bandas características de estiramento das ligações O–H, estiramento das ligações C–H, e vibração das ligações C=O (Figura 15). Na forma cristalina, o grupo hidroxila faz pontes de hidrogênio intermoleculares

com o grupamento éster, resultando num pico estreito em 3550 cm^{-1} . O espectro da forma amorfa indica que ocorra uma mudança na associação do grupo hidroxila através de pontes de hidrogênio, causando um alargamento do pico, e o deslocamento do pico máximo de 3550 cm^{-1} para 3465 cm^{-1} . Também foram observadas alterações na região espectral de 2800 cm^{-1} até 3200 cm^{-1} , que podem ser atribuídas a vibrações de estiramento de ligações C-H simétricas e assimétricas. A região de comprimento de onda de $1660 - 1770\text{ cm}^{-1}$ mostra deslocamento discreto e mescla de picos, indicando uma mudança no envolvimento do grupo éster nas ligações de hidrogênio intermoleculares (GRAESER, 2008).

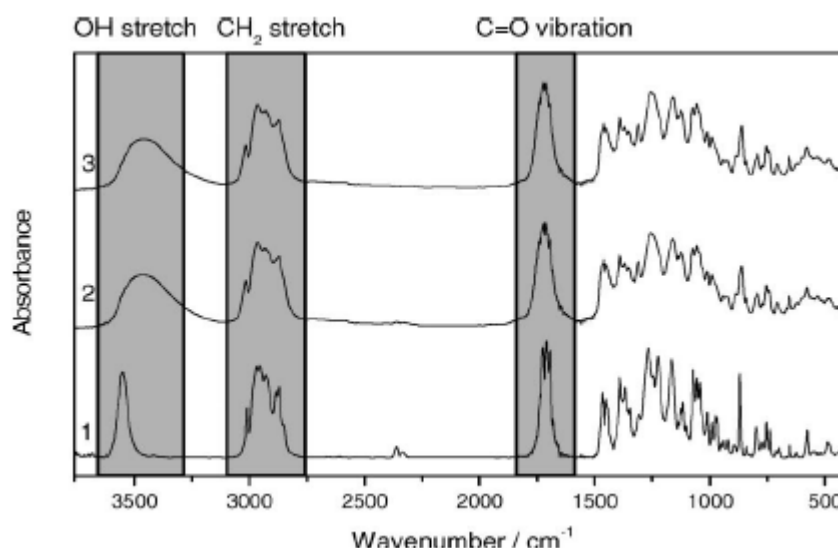


FIGURA 15 – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DE SINVASTATINA: 1) CRISTALINA, 2) AMORFA, E 3) AMORFA.
FONTE: GRAESER (2008).

Os espectros de infravermelho dos cinco lotes apresentaram perfil semelhante à substância química de referência fornecida pela *U.S. Pharmacopeia*, o que confirmou a identidade dos IFAs utilizados.

Todos os lotes avaliados (Figura 16) apresentaram picos característicos em 3552 cm^{-1} (vibração de estiramento das ligações O-H), em 2960 cm^{-1} (vibração de estiramento das ligações C-H), em 1730 cm^{-1} (vibração de estiramento das ligações C=O), em 1459 cm^{-1} e 1389 cm^{-1} (flexão das ligações C-H) e em 1627 cm^{-1} (estiramento das ligações C-O-C do anel lactona), compatíveis com a forma cristalina. (FIELD; STERNHELL; KALMAN, 2008).

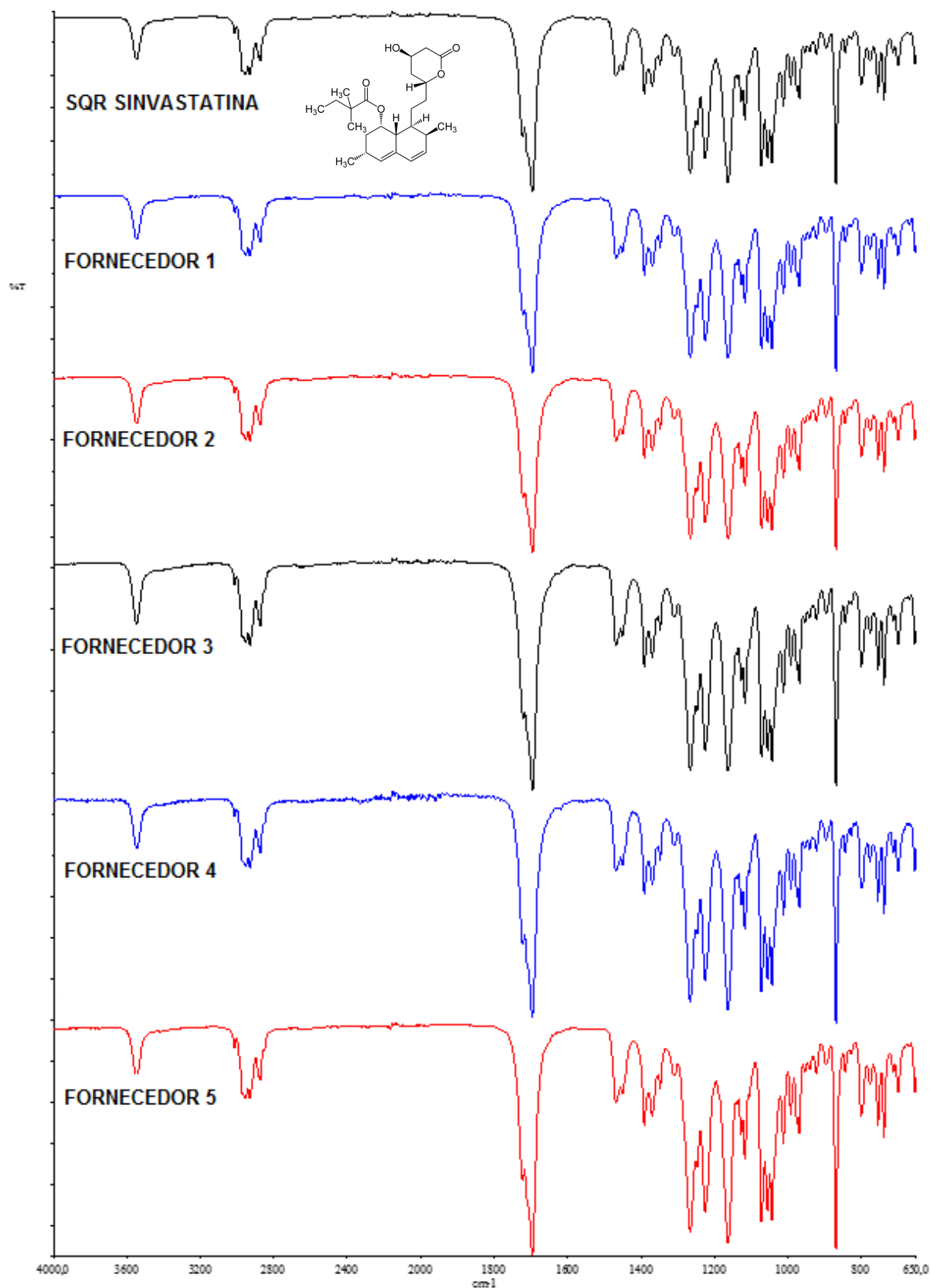


FIGURA 16 – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DO PADRÃO DE SINVASTATINA E DOS LOTES DOS FORNECEDORES 1, 2, 3, 4 E 5.
FONTE: O AUTOR, 2015

5.1.8 Análises por difração de raios X

O padrão de raios X de sinvastatina apresentou diversos picos distintos na região de 8 a 250 (2θ), indicando a natureza cristalina de todos os lotes (Figura 17). Esse padrão é compatível com o relatado na literatura para a forma polimórfica I (Figura 18).

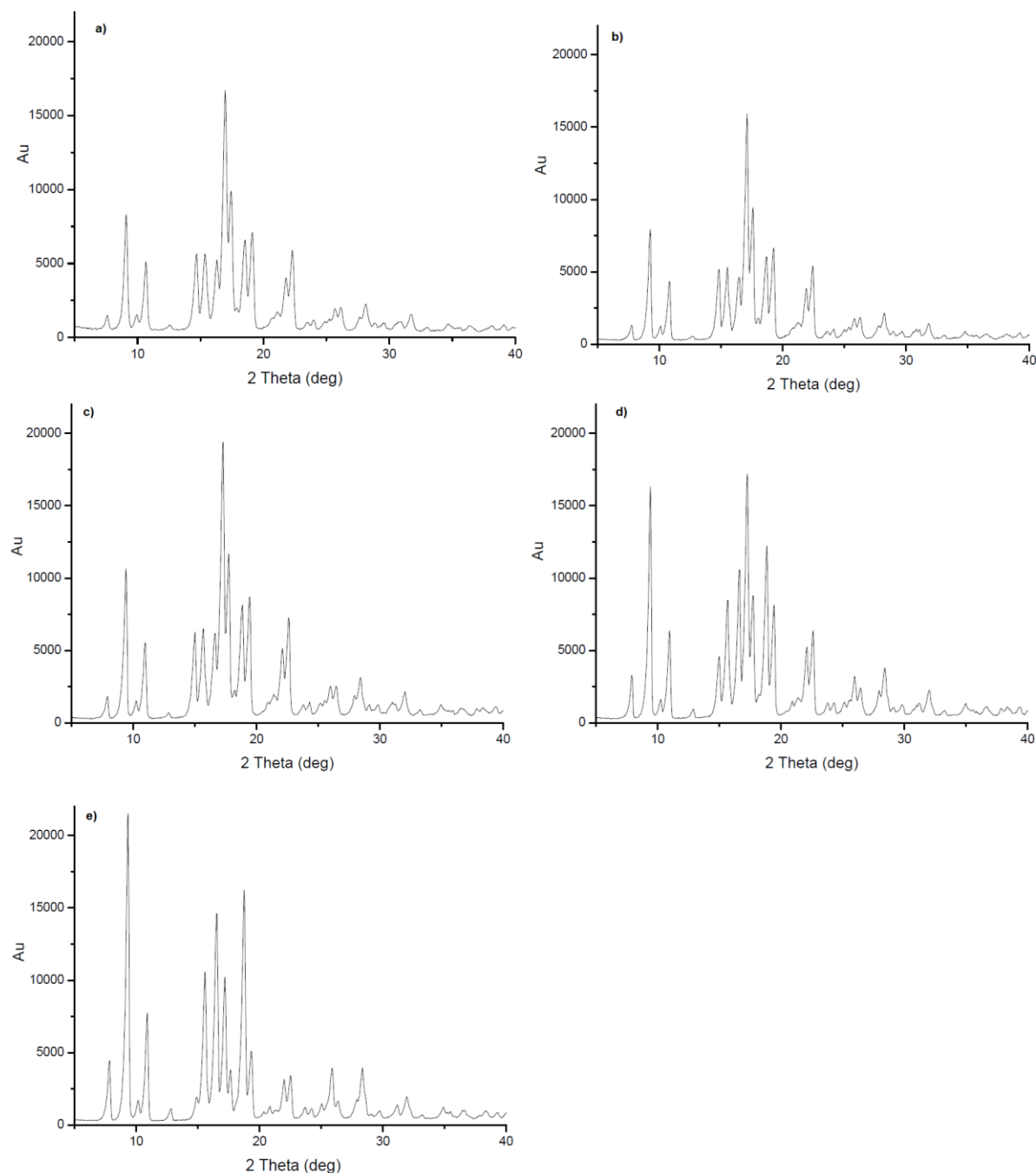


FIGURA 17 – DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DOS LOTES a) FORNECEDOR 1; b) FORNECEDOR 2; c) FORNECEDOR 3; d) FORNECEDOR 4; e) FORNECEDOR 5.
FONTE: O AUTOR, 2015.

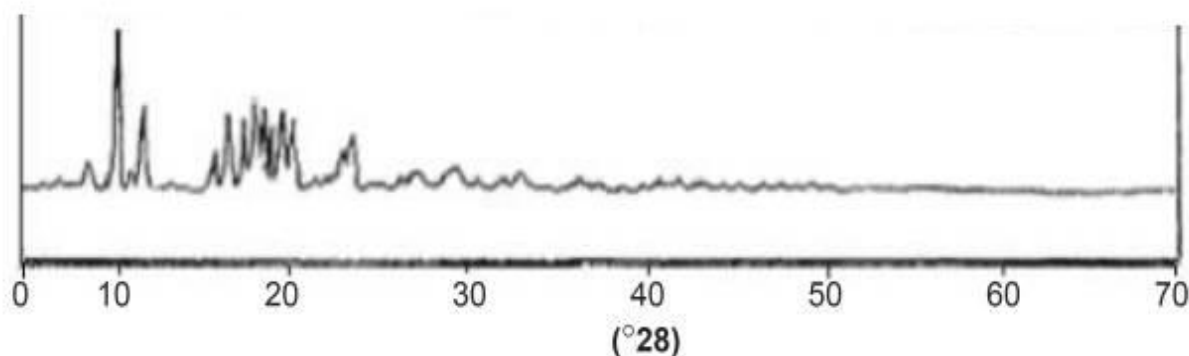


FIGURA 18 – DIFRATOGRAMA DE RAIOS X DE SINVASTATINA FORMA I.
FONTE: SINGH et al. (2012)

A sobreposição dos difratogramas dos cinco lotes avaliados (Figura 19) indicou que todos correspondem à forma I, uma vez que os picos coincidem. Entretanto verifica-se diferença significativa na intensidade dos sinais, o que pode ser um indicativo de diferentes graus de cristalinidade.

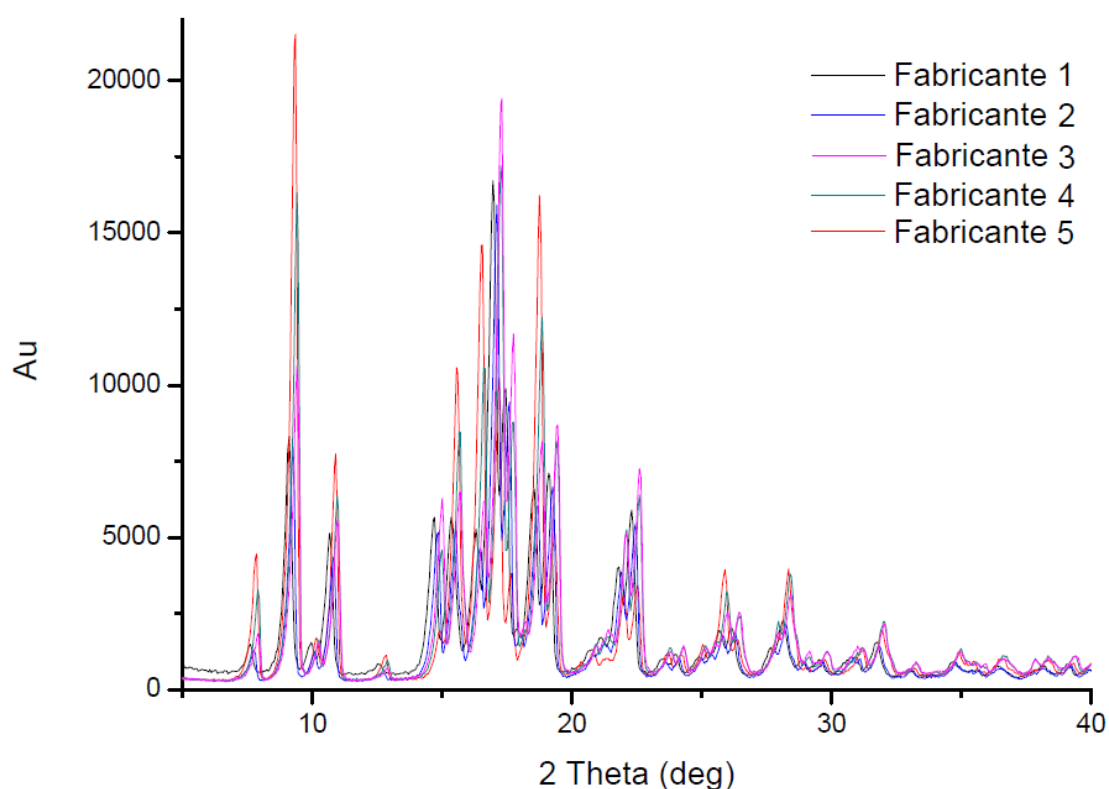


FIGURA 19 – SOBREPOSIÇÃO DOS DIFRATOGRAMAS DE RAIOS X DOS CINCO LOTES DE SINVASTATINA
FONTE: O AUTOR, 2015.

A operação de micronização por tempo prolongado pode reduzir o grau de cristalinidade do sólido, e este fenômeno é especialmente importante para solvatomorfos que possuem menores graus de energia de rede. À medida que o grau de cristalinidade decresce, pode-se chegar ao ponto em que a estrutura cristalina de um hidrato é suficientemente rompida, de modo que a água de rede não pode mais ser retida, e o sólido colapsa em uma forma amorfa (BRITTAIN, 2009). Apesar de a sinvastatina não se tratar de um solvatomorfo, verificou-se que os lotes com tamanho de partícula menor apresentaram menor intensidade dos sinais, o que pode ser um indicativo de menor grau de cristalinidade, uma vez que a diminuição do grau de cristalinidade é evidenciado por XRD pela diminuição da intensidade e aumento da largura a meia-altura dos picos de difração (MOREIRA, 2011). Desta forma, é de se esperar que os lotes com menor tamanho de partícula apresentem menor grau de cristalinidade, e consequentemente maior solubilidade, o que de fato foi reportado no item 5.1.1.

Após a produção do produto acabado, existe a possibilidade de transição de fase *in situ*, o que pode ocorrer devido ao emprego de uma forma metaestável, ou porque as condições do ambiente favorecem a transição. Tais mudanças podem ser tanto hidratação quanto desidratação, alterações na forma polimórfica, ou transições do estado amorfo para cristalino. Um fármaco transformado em um produto acabado pode apresentar solubilidade ou taxa de dissolução alteradas, o que pode resultar em um perfil indesejável (BRITTAIN, 2009). Desta forma, faz-se necessário investigar possíveis interações entre o fármaco e os excipientes da formulação de modo a monitorar quaisquer transformações que possam ocorrer.

5.2 ESTUDO DE INTERAÇÃO FÁRMACO – EXCIPIENTE

5.2.1 Avaliação da compatibilidade química entre a sinvastatina e os excipientes da formulação

Oliveira e colaboradores (2010) relataram incompatibilidade química entre a sinvastatina e o butilhidroxianiso (BHA), excipiente utilizado como antioxidante nas formulações contendo sinvastatina. A ausência de fusão da sinvastatina em 138,5°C (Figura 20) foi atribuída a uma amorfização de sua estrutura cristalina induzida pelo BHA.

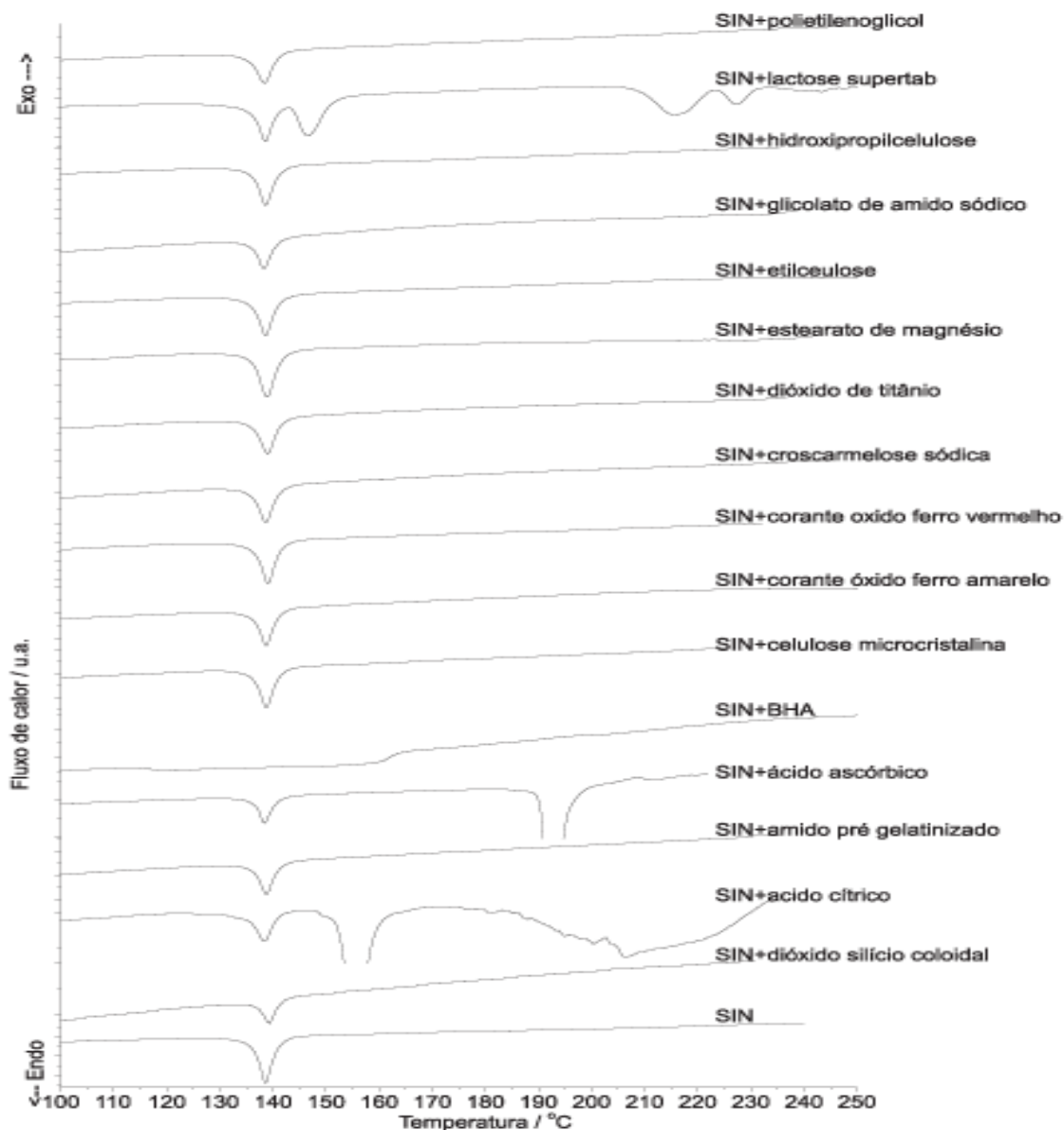


FIGURA 20 – CURVAS DE DSC DE MISTURAS BINÁRIAS (1:1) DE SINVASTATINA COM CADA EXCIPIENTE, SOB ATMOSFERA DE NITROGÊNIO E RAZÃO DE AQUECIMENTO DE 10°C/MIN. FONTE: OLIVEIRA *et al.* (2010)

A fim de confirmar tal informação, misturas binárias de todos os lotes de sinvastatina e BHA foram preparadas e analisadas por DSC (Figuras 21 a 25).

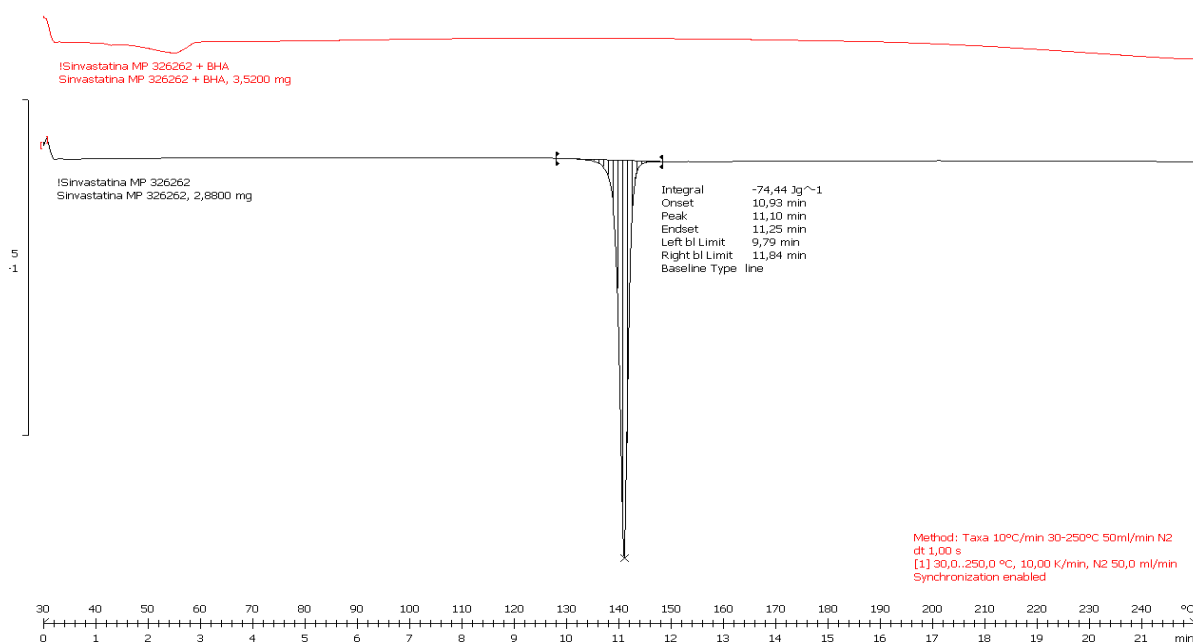


FIGURA 21 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DO LOTE DO FORNECEDOR 1 E BHA (1:1 *p/p*)
FONTE: O AUTOR, 2014.

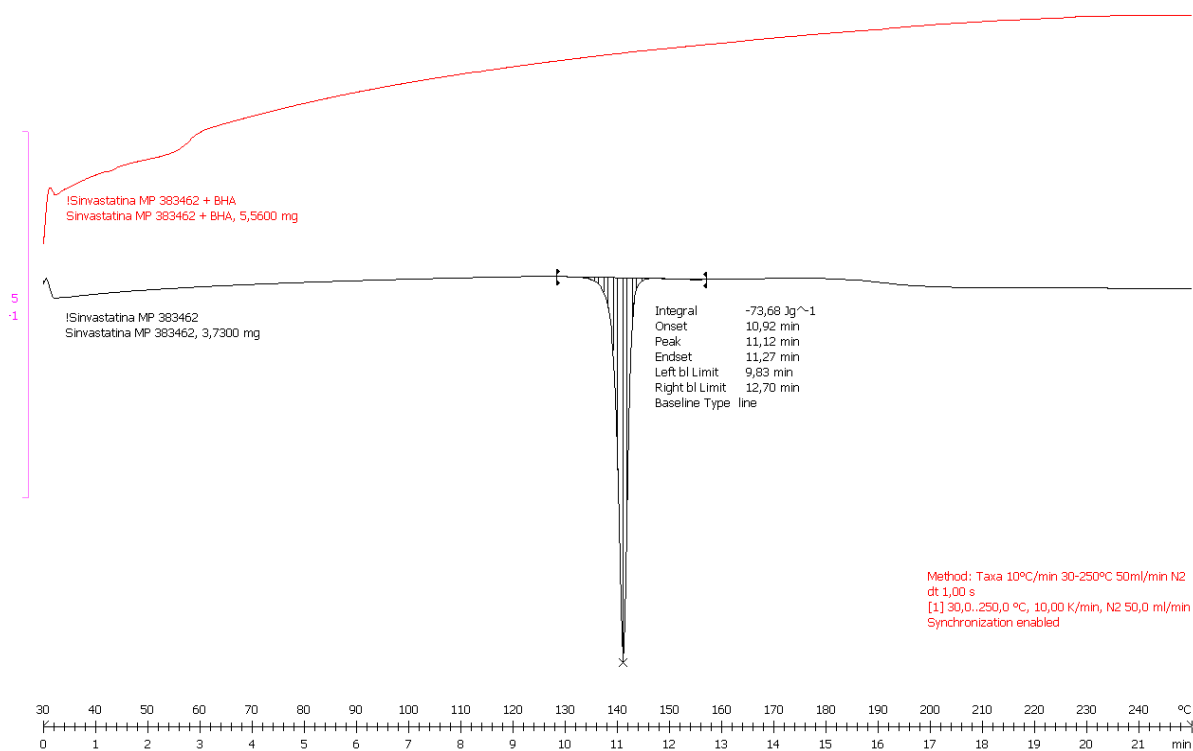


FIGURA 22 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 2 E BHA (1:1 *p/p*)
FONTE: O AUTOR, 2014.

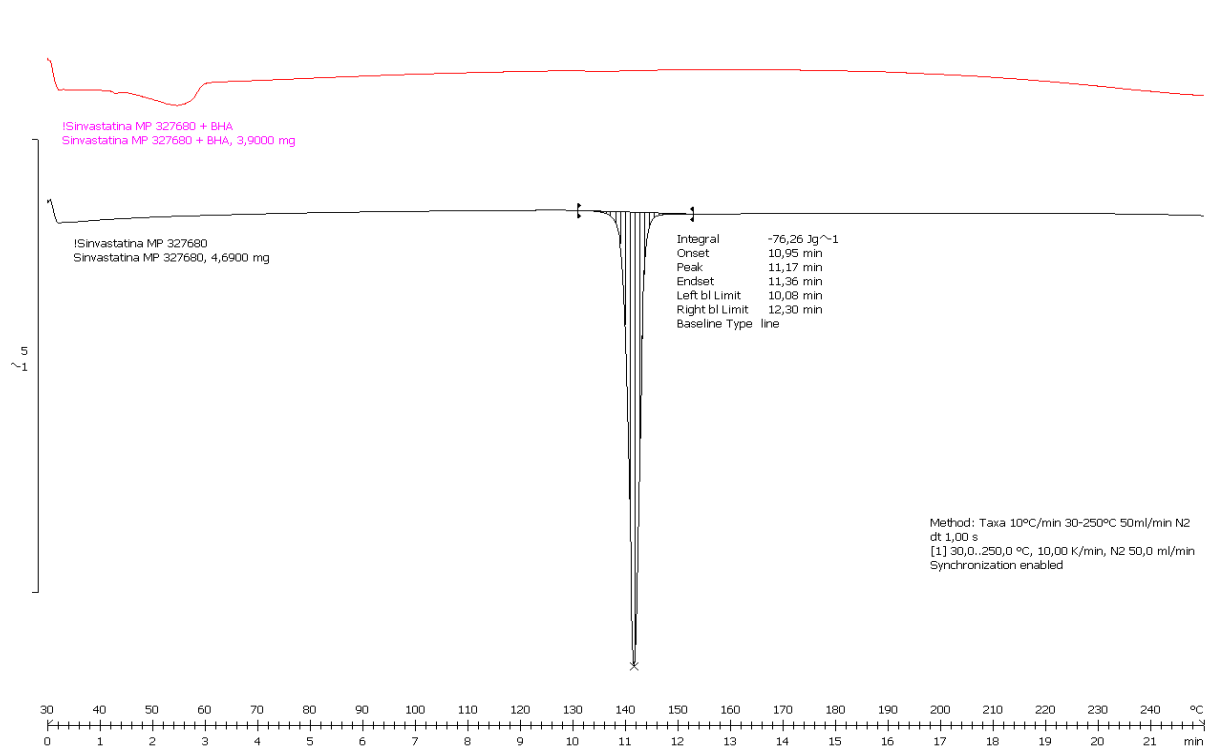


FIGURA 23 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DO LOTE DO FORNECEDOR 3 E BHA (1:1 *p/p*)
FONTE: O AUTOR, 2014.

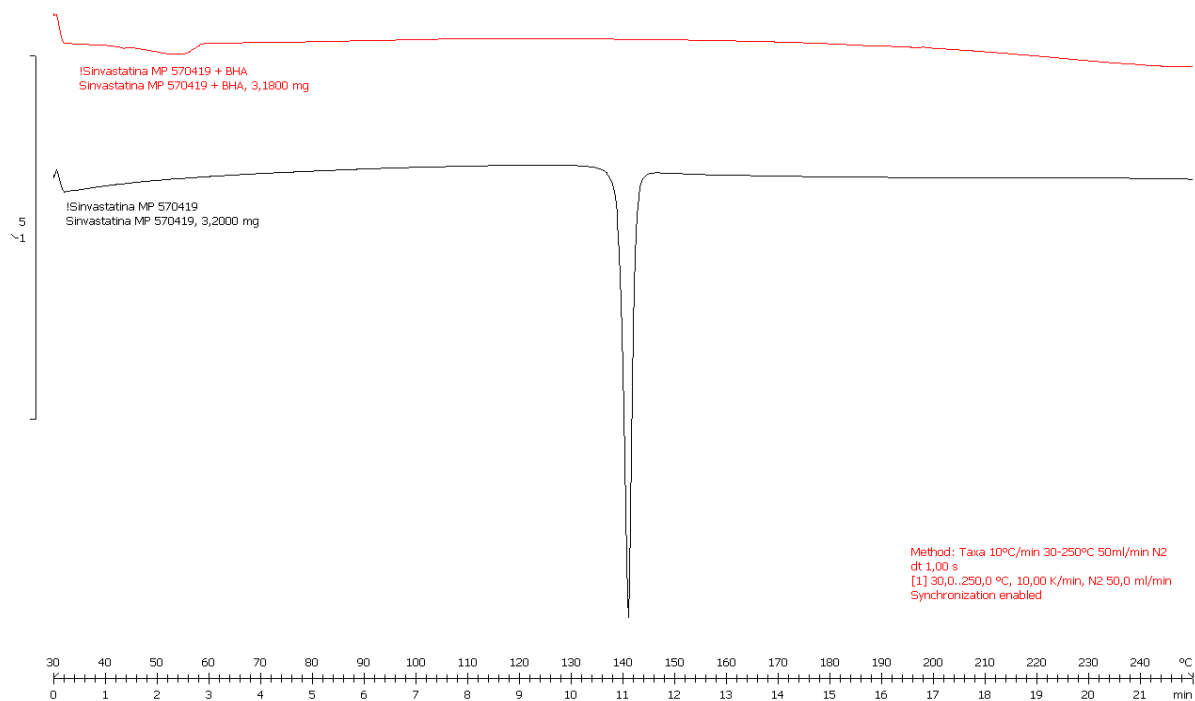


FIGURA 24 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 4 E BHA (1:1 *p/p*)
FONTE: O AUTOR, 2014.

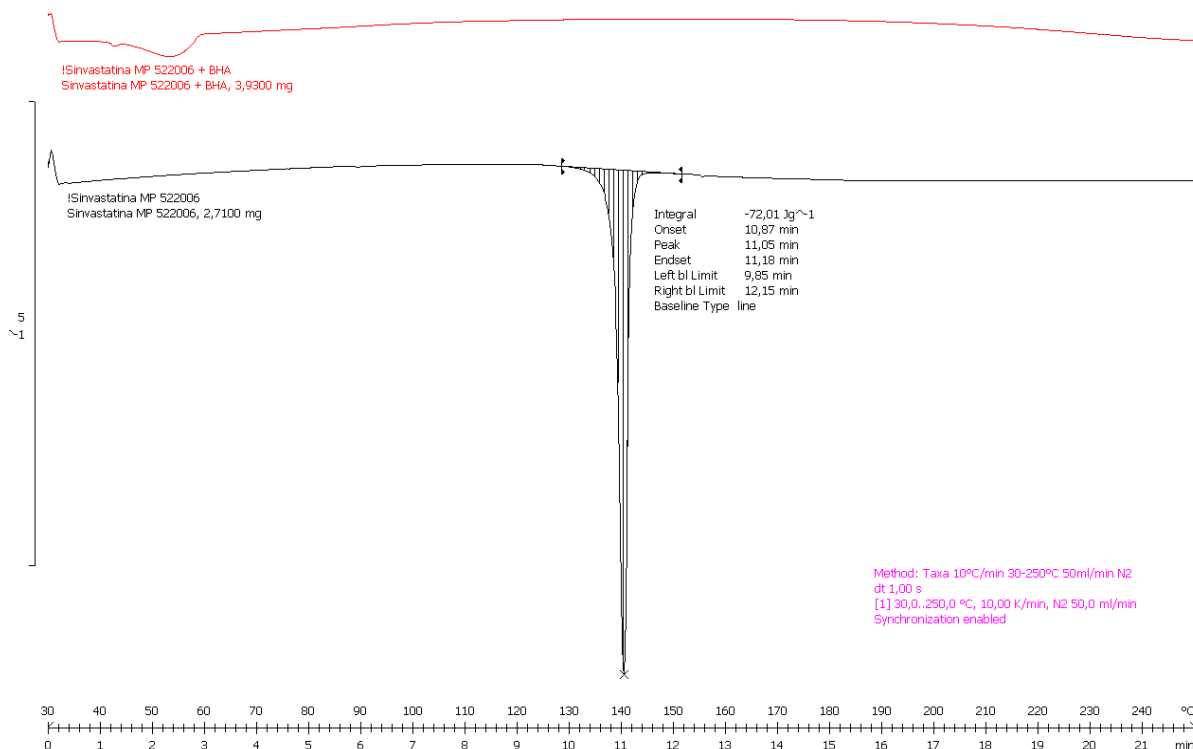


FIGURA 25 – PERFIL CALORIMÉTRICO DE SINVASTATINA PURA E DE MISTURA BINÁRIA DE DO LOTE DO FORNECEDOR 5 E BHA (1:1 *p/p*)
FONTE: O AUTOR, 2014.

De fato, após a mistura binária, foi verificado o desaparecimento do ponto de fusão da sinvastatina, sugerindo uma incompatibilidade química. Entretanto, a faixa de fusão do BHA é de 48 a 55°C (SciFinder, 2014). Desta forma, o desaparecimento do evento de fusão pode ser devido à fusão do BHA e imediata solubilização da sinvastatina, e não a uma incompatibilidade química entre tais compostos.

Para testar tal hipótese, uma pequena quantidade de BHA sólido foi colocada em uma placa de petri e aquecida até fusão completa (Figura 26). Após a fusão completa do BHA, a temperatura foi mantida em 60°C. Uma pequena quantidade de sinvastatina foi adicionada ao BHA fundido, ao passo que se verificou imediata solubilização da sinvastatina (Figura 27).

Em vista disso, pode-se afirmar que o desaparecimento do evento de fusão da sinvastatina é devido à interação entre os dois compostos em questão, com formação de mistura eutética com consequente redução de ponto de fusão.

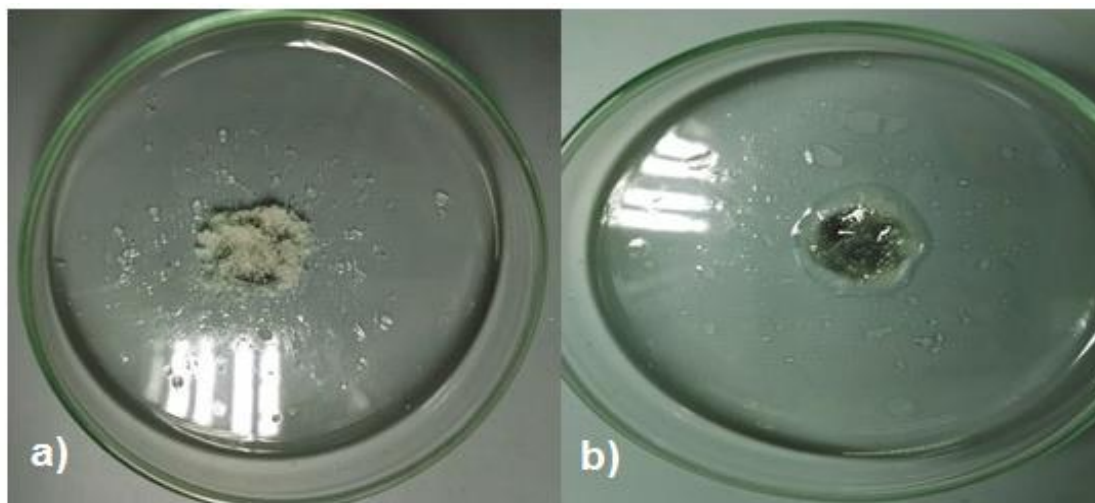


FIGURA 26 – BHA a) NO ESTADO SÓLIDO E b) APÓS AQUECIMENTO A 60°C
FONTE: O AUTOR, 2014.

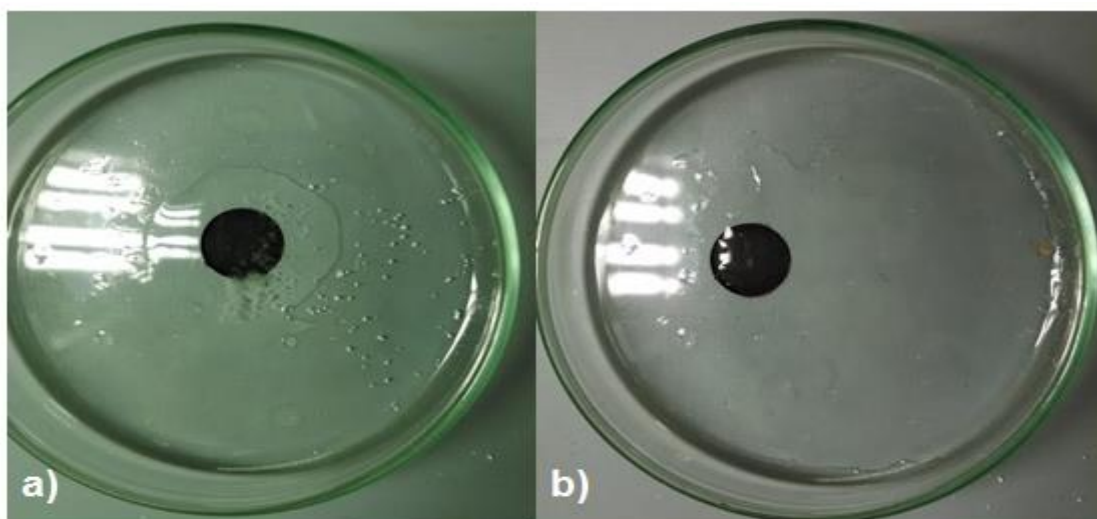


FIGURA 27 – SINVASTATINA ADICIONADA AO BHA FUNDIDO a) TEMPO ZERO; b) APÓS ALGUNS SEGUNDOS.
FONTE: O AUTOR, 2014.

Contudo, mesmo após a refrigeração a 4°C por 24 horas, não se verificou a recristalização do BHA em contato com a sinvastatina (Figura 28). As misturas binárias mantidas à temperatura ambiente sofreram uma fusão após algumas horas, formando uma liga de consistência pegajosa. Desta forma, a interação da sinvastatina com o BHA gera uma mistura eutética com redução no ponto de fusão.



FIGURA 28 – MISTURA DE BHA + SINVASTATINA APÓS REFRIGERAÇÃO A 4°C POR 24 HORAS. FONTE: O AUTOR, 2014.

5.2.2 Influência dos excipientes da formulação na solubilidade da sinvastatina

5.2.2.1 Influência do butil hidroxianisol na solubilidade da sinvastatina

O BHA é empregado nos comprimidos de sinvastatina em concentrações de aproximadamente 0,05% para prevenir a oxidação da mesma (EL KARBANE et al., 2014).

Uma vez que ao misturar sinvastatina e BHA ocorre alteração nas características físicas de ambos, e que o BHA solubiliza facilmente a sinvastatina, investigou-se a interferência desta mistura na solubilidade da mesma.

As amostras foram quantificadas pelo método descrito em 4.2.1.2, com a mesma curva de calibração descrita em 5.1.1 (Tabela 11). Os resultados de solubilidade do ativo nas misturas contendo sinvastatina e BHA nas concentrações de 0,2%, 1,0%; 0,5% e 50% (*p/p*) foram comparados em termos de porcentagem dissolvida em relação ao resultado da solubilidade em água do IFA puro.

Uma vez que se verificou redução na solubilidade do IFA com o aumento da quantidade de BHA na mistura (Tabela 15), foi realizada uma análise de regressão com o intuito de verificar a existência de correlação entre estas variáveis.

TABELA 15 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO BHA NA SOLUBILIDADE EM ÁGUA DA SINVASTATINA

Amostras	Áreas (Au)	Conc. Dissolvida (µg/mL)	% dissolvida em relação ao IFA puro
326262	139130	2,71	100,00
326262 : BHA 0,2%	139789	2,73	100,47
326262 : BHA 1%	139008	2,71	99,91
326262 : BHA 5%	137216	2,67	98,62
326262 : BHA 50%	65272	1,07	46,91
383462	139753	2,72	100,00
383462 : BHA 0,2%	139586	2,72	99,88
383462 : BHA 1%	139402	2,72	99,75
383462 : BHA 5%	137557	2,68	98,43
383462 : BHA 50%	82256	1,45	58,86
327680	113341	2,14	100,00
327680 : BHA 0,2%	113312	2,14	99,97
327680 : BHA 1%	111416	2,10	98,30
327680 : BHA 5%	110669	2,08	97,64
327680 : BHA 50%	27840	0,25	24,56
570419	105902	1,97	100,00
570419 : BHA 0,2%	105765	1,97	99,87
570419 : BHA 1%	105712	1,97	99,82
570419 : BHA 5%	104058	1,93	98,26
570419 : BHA 50%	31159	0,32	29,42
522006	109034	2,04	100,00
522006 : BHA 0,2%	109672	2,06	100,59
522006 : BHA 1%	109199	2,05	100,15
522006 : BHA 5%	108400	2,03	99,42
522006 : BHA 50%	45032	0,63	41,30

FONTE: O AUTOR, 2014.

A análise de regressão obtida através do *software* Minitab® (Figura 29) confirmou, com 95% de confiança, correlação negativa entre a quantidade de BHA e a solubilidade da sinvastatina, uma vez que o valor de R^2 para o modelo linear foi de 78,03%, e o p-valor (0,000) foi inferior ao nível de significância de 0,05. Quanto maior a quantidade de BHA, menor a solubilidade da sinvastatina.

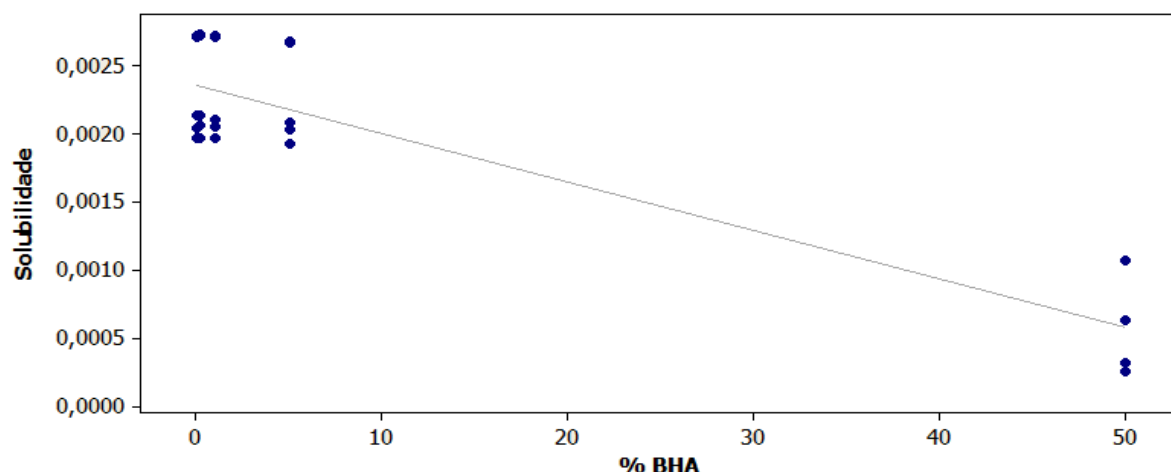


FIGURA 29 – GRÁFICO DE REGRESSÃO PARA “SOLUBILIDADE” VS “% BHA” OBTIDO COM O SOFTWARE MINITAB® 16

FONTE: O AUTOR, 2014.

Apesar da redução significativa nas misturas binárias, evidenciada na Tabela 15, as concentrações de 0,2% a 5,0% de BHA não exerceram influência significativa na solubilidade. Desta forma, pode-se afirmar que, apesar da incompatibilidade verificada, o BHA não exerce interferência na solubilidade intrínseca de sinvastatina quando empregado nas quantidades usuais em produtos farmacêuticos.

5.2.2.2 Avaliação da influência dos demais excipientes na solubilidade da sinvastatina

Semelhantemente ao avaliado para o BHA, investigou-se a interferência dos demais excipientes da formulação, conforme citados na Tabela 2, na solubilidade intrínseca da sinvastatina.

Com o intuito de verificar a diferença estatística entre as médias de solubilidade da substância pura e adicionada de excipientes, para cada caso foi testada a seguinte hipótese, com 95% de confiança:

$$H_0: \mu_{\text{puro}} = \mu_{\text{mistura}}$$

$$H_1: \mu_{\text{puro}} \neq \mu_{\text{mistura}}$$

Em que na hipótese nula H_0 a média de solubilidade da substância pura é estatisticamente igual à média de solubilidade da mistura de sinvastatina e excipiente, e na hipótese H_1 estas médias são diferentes. Se o valor de p encontrado

for inferior ao nível de significância de 0,05, aceita-se a hipótese nula H_0 e pode-se afirmar, com 95% de confiança, que a média das quantidades dissolvidas da substância pura e da mistura com excipientes são iguais.

Como pode ser observado na Tabela 16, apenas a lactose não exerceu influência significativa na quantidade de sinvastatina dissolvida, uma vez que o p-valor foi superior ao nível de significância de 0,05.

Apesar da redução na solubilidade verificada nas misturas binárias entre o IFA e ácido cítrico, ácido ascórbico e *Opadry*, pode-se afirmar que tais excipientes não exercem influência significativa quando empregados nas quantidades usuais (inferior a 1%) em formulações farmacêuticas.

TABELA 16 – AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DOS EXCIPIENTES DA FORMULAÇÃO EM DIFERENTES PROPORÇÕES NA SOLUBILIDADE EM ÁGUA DA SINVASTATINA

Amostras	Conc. Dissolvida (mg/mL)	DPR (%)	% dissolvida em relação ao IFA puro	Teste t p-valor
326262	0,00272	0,973	100,00	-
326262 : Lactose 50%	0,00270	3,704	99,26	0,8020
326262 : Amido 50%	0,00001	2,862	0,41	0,0000
326262 : Talco 50%	0,00249	1,412	91,42	0,0014
326262 : Celulose 50%	0,00349	0,166	128,19	0,0006
326262 : Ácido cítrico 50%	0,00232	1,083	85,42	0,0047
326262 : Ácido cítrico 1%	0,00272	1,103	100,00	1,0000
326262 : Ácido ascórbico 50%	0,00207	3,620	76,23	0,0020
326262 : Ácido ascórbico 1%	0,00273	0,923	100,25	0,4226
326262 : Dióxido de titânio 50%	0,00292	1,204	107,23	0,0020
326262 : Dióxido de titânio 1%	0,00275	1,818	101,10	0,5624
326262 : Estearato de magnésio 50%	0,01501	0,102	551,72	0,0000
326262 : Estearato de magnésio 1%	0,00315	0,457	115,90	0,0028
326262 : Opadry 50%	0,00256	0,327	94,02	0,0149
326262 : Opadry 1%	0,00272	0,699	100,00	1,0000

FONTE: O AUTOR, 2015.

O amido foi responsável por uma redução significativa na solubilidade, enquanto que a celulose proporcionou certo aumento, fatos que podem ser explicados pela solubilidade de ambos. Considerando que o ensaio foi realizado a 37°C por 24 horas e o amido é solúvel em água quente, possuindo propriedade de formação de gel, sendo assim, era de se esperar que a solubilização do mesmo

reduzisse a quantidade de água disponível para solubilizar a sinvastatina, o que não ocorreu com a celulose, que é insolúvel em água.

Ao contrário do esperado, o estearato de magnésio, cuja estrutura química está representada na Figura 30, exerceu influência significativamente positiva na solubilidade do ativo. Empregado como lubrificante e adjuvante de fluxo, o estearato de magnésio é hidrofóbico e conhecido por retardar o perfil de dissolução de formas sólidas orais (LEVY; GUMTOW, 1963). Entretanto, por se tratar de uma molécula com uma extremidade polar e uma cadeia longa apolar, exerceu função de tensoativo, reduzindo a tensão superficial das partículas de ativo, o que facilitou a solubilização do mesmo.

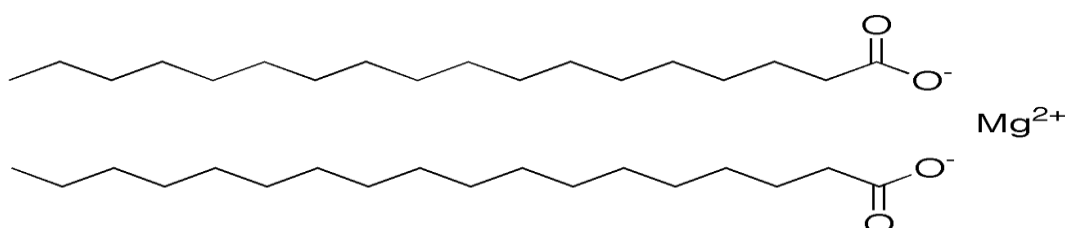


FIGURA 30 – ESTRUTURA QUÍMICA DO ESTEARATO DE MAGNÉSIO
FONTE: USP 37, 2014.

Já que o estearato de magnésio exerceu influência positiva na solubilidade do ativo, cinco formulações distintas com quantidades crescentes deste excipiente foram preparadas. Os parâmetros tempo de desintegração e solubilidade foram avaliados.

TABELA 17 – SOLUBILIDADE E TEMPO DE DESINTEGRAÇÃO EM FORMULAÇÕES CONTENDO QUANTIDADES CRESCENTES DE ESTEARATO DE MAGNÉSIO

Quantidade de estearato na formulação (%)	Tempo de desintegração (min)	Solubilidade da sinvastatina na formulação (mg/mL)
0,25	1,32	0,00215
0,50	1,97	0,00271
1,00	2,68	0,00325
2,50	5,71	0,00291
5,00	14,18	0,00192

FONTE: O AUTOR, 2015.

Os resultados apresentados na Tabela 17 permitiram concluir que a relação entre a quantidade de estearato de magnésio no comprimido e o aumento na solubilidade do ativo é linear somente até 1,0%, o que não foi observado na mistura simples de ativo e excipiente. Desta forma, é possível que o estearato de magnésio quando empregado em quantidades maiores, por ser hidrofóbico, forme uma

barreira impermeabilizante após a compressão, dificultando assim a solubilização do ativo. Também foi verificado que a quantidade do excipiente em questão influencia exponencialmente no tempo de desintegração dos comprimidos de sinvastatina, elevando este parâmetro a valores indesejáveis para formulações de liberação imediata, quando empregado em quantidades relativas de 5,0% ou superiores.

5.2.2.3 Avaliação da interferência dos excipientes na solubilidade da sinvastatina em comprimidos

Com o intuito de avaliar o impacto dos excipientes na solubilidade da sinvastatina, foram preparadas cinco formulações contendo 80 mg de sinvastatina, cada uma de um fornecedor distinto de IFA.

Os comprimidos foram formulados de forma qualitativamente semelhante ao medicamento de referência Zocor®, variando apenas a origem da sinvastatina, conforme descrito na Tabela 2. Tais comprimidos, juntamente com o medicamento de referência Zocor® 80 mg, foram desintegrados em 40 mL de água purificada e submetidos ao procedimento de solubilidade em equilíbrio descrito em 4.2.1.1. As amostras foram preparadas e quantificadas conforme descrito em 4.2.1.2. Os resultados podem ser visualizados na Tabela 18.

TABELA 18 – SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO DA SINVASTATINA EM FORMULAÇÕES PREPARADAS COM ATIVO DE FORNECEDORES DIFERENTES

Amostras	Lote IFA	Conc. Sinvastatina Dissolvida (mg/mL)	% dissolvida em relação ao REF
REF	-	0,00312	-
Formulação 1	326262	0,00226	72,41
Formulação 2	383462	0,00227	75,60
Formulação 3	327680	0,00190	65,21
Formulação 4	570419	0,00189	64,67
Formulação 5	522006	0,00191	65,32

FONTE: O AUTOR, 2014.

Esta análise evidenciou uma redução na solubilidade da sinvastatina em todos os lotes quando associada aos demais componentes da formulação, e que todas as formulações apresentaram solubilidade inferior ao medicamento de referência Zocor® 80 mg.

Também foi verificado que as formulações obtidas a partir dos IFAs com menor solubilidade (Fornecedores 3, 4 e 5) apresentaram-se igualmente menos solúveis quando comparadas com as formulações obtidas com IFAs de maior solubilidade (Fornecedores 1 e 2).

5.2.3 Avaliação da taxa de dissolução de comprimidos de sinvastatina manufaturados com diferentes fornecedores de IFA

5.2.3.1 Desenvolvimento do método para análise do perfil de dissolução em dissolutor de célula de fluxo

Os comprimidos de sinvastatina avaliados neste trabalho apresentam mecanismo de liberação imediata e devem ser administrados à noite, em jejum ou com alimento.

No estado de jejum, o volume de líquido do estômago é de cerca de 48 ± 11 mL (MCCONNELL; FADDA; BASIT, 2008), o pH pode variar na faixa de 1,3 a 2,5 (WORSØE et al., 2011), e a tensão superficial na faixa de 28 a 45 nM/m (MCCONNELL et al., 2008). O tempo de esvaziamento gástrico pode variar de 5 a 133 minutos (WORSØE et al., 2011), sendo que líquidos não viscosos possuem trânsito livre. O volume de líquido no intestino delgado é em jejum é bastante variável, sendo cerca de 54 ± 41 mL, o pH encontra-se na faixa de $6,6 \pm 0,5$ no jejuno e $7,5 \pm 0,5$ no íleo. Enquanto o tempo de esvaziamento gástrico é altamente variável e afetado por diversos fatores, o trânsito no intestino delgado é mais consistente e praticamente independente de influências externas. Estima-se que o trânsito de formas farmacêuticas seja de cerca de 3 a 4 horas, porém variações maiores já foram observadas (McCONNELL, 2008; WORSØE et al., 2011). Abrahamsson e col. (2005) sugeriram que o fluxo gastrointestinal é laminar, com coeficiente de Reynolds na ordem de 0,01 até 30.

Considerando que o estado de jejum é menos variável e mais provável de se estabelecer uma correlação *in vitro* - *in vivo*, uma vez que independe da composição de alimentos, o perfil de dissolução em célula de fluxo foi avaliado de forma a simular tal estado.

Os meios de dissolução, fluxo e os tempos de permanência em cada meio foram selecionados de forma a mimetizar o trânsito gastrointestinal no estado de jejum, uma vez que a composição dos meios selecionados se assemelha aos biológicos no que diz respeito à pH, osmolaridade, tensão superficial e capacidade tamponante. Considerando as baixas taxas de velocidade linear presentes na célula de 22,6 mm de diâmetro, os coeficientes de Reynolds muito baixos presentes em taxas de fluxo de 4 a 50 mL/min interferem minimamente na taxa de dissolução dentro desta faixa de fluxo (CAMMARN & SAKR, 2000). Investigações prévias sugeriram que a taxa de fluxo de 8 mL/min é adequada para estabelecimento de correlação IVIV (D'ARCY; LIU; CORRIGAN, 2011) .

O filtro de microfibras de vidro de abertura de poro de 0,22 µm foi selecionado por ser inerte e exercer pouca ou nenhuma interferência na quantificação das amostras. A abertura de poro de 0,22 µm foi necessária para reter adequadamente as partículas não dissolvidas, uma vez que o ativo empregado na formulação dos comprimidos estava micronizado.

5.2.3.2 Desenvolvimento e validação do método por CLUE-DAD para quantificação de sinvastatina no teste de dissolução

O método de quantificação das amostras de perfil de dissolução descrito pela USP 37 recomenda que as amostras sejam tratadas com solução de dióxido de manganês pré-lavado por 30 minutos, com o intuito de eliminar a interferência dos excipientes da formulação na quantificação por espectrofotometria de ultravioleta. Após tal tratamento, as amostras devem ser centrifugadas e o sobrenadante analisado em espectrofotômetro de UV nos comprimentos de onda de 247 nm e 257 nm. A quantidade dissolvida pode ser obtida através da diferença entre as absorbâncias da solução teste nos comprimentos de onda de máxima e mínima absorbância, em 247 nm e 257 nm respectivamente, comparadas com solução padrão preparada com padrão de sinvastatina, com o mesmo meio e tratada da mesma forma que a solução teste.

Uma vez que o método de quantificação descrito na USP 37 é demasiado laborioso, não específico, suscetível a erros de preparo devido às diversas etapas e consome muito tempo ao se considerar que cada perfil de dissolução tem seis cubas

e sete tempos de coleta gerando 42 amostras, um novo método de quantificação, empregando cromatografia a líquido de ultra eficiência com detecção no ultravioleta, foi desenvolvido e validado. Tal método foi desenvolvido de modo a abranger a quantificação das amostras de perfil de dissolução em aparato II e IV. A sinvastatina é uma molécula apolar (MOFFAT et al., 2004; SCHMITZ; TORZEWSKI, 2012) cujo log P é de 4,4 (MURTAZA, 2012). É um pró fármaco, cujo anel lactona sofre hidrólise *in vivo* gerando os derivados hidroxíácidos, os quais são responsáveis pela ação farmacológica (ALAKHALI et al., 2013). Estudos *in vitro* demonstraram que esta hidrólise pode ocorrer em meios ácidos (pH 2,0). A estabilidade máxima do anel lactona da sinvastatina ocorre em pH 5,0 (SERAJUDDIN, 1991), enquanto que em pHs acima de 6,0 até 9,0 ocorre um aumento exponencial na taxa de degradação (ALVAREZ-LUEJE et al., 2005).

A cromatografia a líquido em fase reversa foi escolhida devido à característica apolar do analito.

No desenvolvimento do método, foram avaliadas diferentes colunas cromatográficas C8 e C18, com dimensão de 50,0 mm de comprimento, 2,1 mm de diâmetro e 1,7 µm de tamanho de partícula. A coluna Ethylene Bridged Hybrid [BEH] C18, 50,0 x 2,1 mm, 1,7 µm (Waters, USA) foi a que apresentou o melhor desempenho, ou seja, a melhor relação entre fator de retenção, resolução e qualidade cromatográfica.

O pH 5,0 da fase móvel foi selecionado de modo a favorecer a máxima estabilidade do analito. O tampão ácido acético/acetato de amônio foi selecionado por ser volátil e permitir futuras transposições para cromatógrafo acoplado à espectrometria de massas.

O espectro de absorção no ultravioleta da sinvastatina descrito na literatura (Figura 31) mostrou que esse fármaco apresenta absorção de luz ultravioleta na faixa de comprimento de onda de 200 a 260 nm, viabilizando a detecção por esta técnica. Desta forma, o comprimento de onda de 237 nm foi selecionado para a análise, pois corresponde ao λ de absorção máxima da sinvastatina. O detector utilizado foi o de arranjo de fotodiodos.

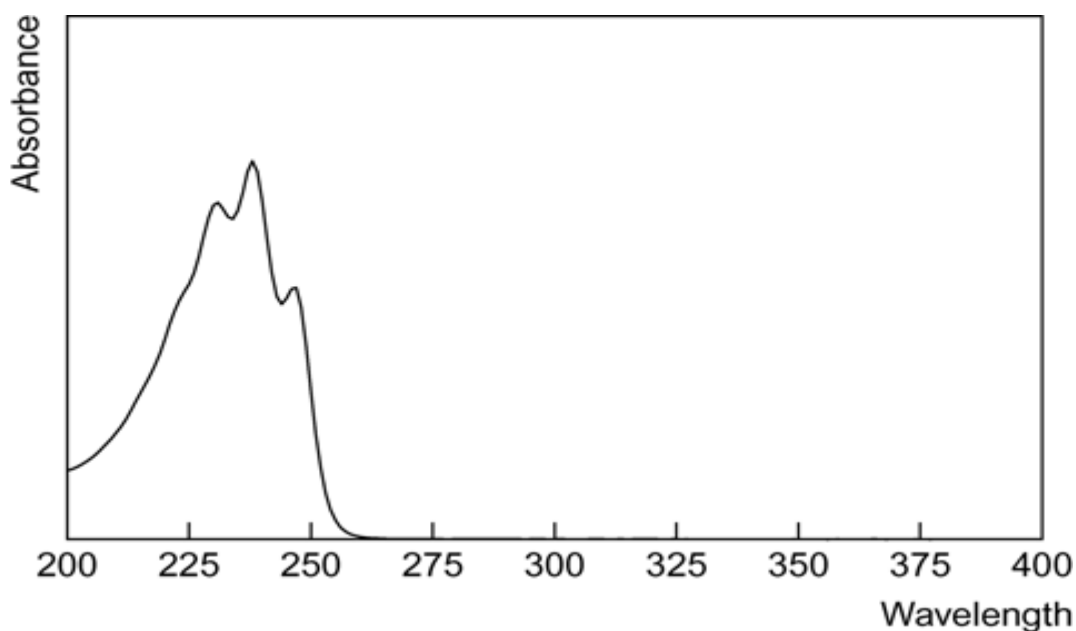


FIGURA 31 – ESPECTRO DE ABSORÇÃO NO ULTRAVIOLETA DA SINVASTATINA.
FONTE: MOFFAT, et al., 2004.

Amostras nas concentrações de 0,0022 mg/mL e 0,1066 mg/mL, preparadas em cada meio de dissolução, foram injetadas nos volumes de injeção de 2, 4 e 6 μ L. O volume de injeção de 4,0 μ L demonstrou-se o mais adequado para ambas as concentrações, de modo que com este volume a faixa de trabalho permanece dentro da linearidade do detector.

Os parâmetros otimizados para o método cromatográfico foram os seguintes:

- Fase Móvel:
Solução A – Tampão acetato de amônio pH 5,0 (30%).
Solução B – Acetonitrila (70%);
- Fluxo: 0,4 mL/min;
- Detector: UV 237 nm;
- Volume injetado: 4 μ L;
- Temperatura do forno da coluna: 40°C;
- Coluna: Acquity BEH C18 5,0 x 2,1 mm, 1,7 μ m;
- Tempo de retenção da sinvastatina: 1,4 minutos;
- Tempo de corrida: 2,1 min.

A validação do método analítico foi executada de acordo com a Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 e de acordo com o capítulo geral 1092 da *United States Pharmacopeia* 38. Segundo a diretriz nacional, o ensaio de dissolução se

enquadra na categoria III (testes de performance), para o qual se exige somente a realização do parâmetro precisão. Segundo a USP 38, os parâmetros-chave para garantir a aceitabilidade do desempenho de um método analítico para o teste de dissolução são seletividade/interferência do placebo, linearidade, precisão, exatidão, e robustez.

5.2.3.2.1 Seletividade/Interferência do placebo

Seletividade é a capacidade que o método possui em medir exatamente o analito de interesse em presença de outros componentes como constituintes da matriz, outros fármacos, produtos de degradação e impurezas (CHAN et al., 2004).

A seletividade do método foi avaliada através da verificação da interferência do placebo, o qual consiste na mistura dos excipientes da formulação nas proporções empregadas no produto acabado, na quantificação das amostras.

Para determinar a seletividade do método, dois modelos distintos de avaliação foram utilizados, sendo estes: avaliação da interferência da matriz dos diferentes meios de dissolução (TFP pH 7,0 + 0,5% LSS, FaSSGF, SCoF, FaSSIF) e placebo na quantificação da sinvastatina; e uso de detectores de arranjo de diodo para avaliação da pureza do pico do ativo na solução padrão.

A Tabela 19 e a Figura 33 comprovam que não houve coeluição de outras substâncias com a sinvastatina, uma vez que o valor de *purity angle* foi inferior ao valor de *purity threshold*. Na Figura 33 pode-se visualizar que a linha de pureza não ultrapassa a linha de *autothreshold*, garantindo a pureza do pico cromatográfico em questão.

O teste de pureza de pico verifica se um pico é espectralmente puro, ou seja, se ele é composto por um só componente ou por múltiplos componentes. Tal teste pode ser realizado através do *software* Empower comparando-se o *purity angle* (ângulo de pureza) com o *purity threshold* (limite de pureza). O *purity angle* é uma medida da homogeneidade espectral, uma média ponderada de todos os ângulos de contraste espectrais calculados a partir da comparação dos espectros de cada ponto no pico integrado contra o espectro do ápice do pico. O *purity angle* pode variar de 0 a 90 graus. *Purity threshold* é o maior valor de *purity angle* que pode ser atribuído a ruído, erro fotométrico e contribuição de solventes, e não a uma diferença na forma

espectral. Quando o valor de *purity angle* é menor que o valor de *purity threshold*, as possíveis diferenças no espectro podem ser explicadas pelas contribuições dos fatores citados acima, e o pico encontra-se homogêneo. Se o valor de *purity angle* for maior que o de *purity threshold*, as diferenças no espectro são maiores do que aquelas levadas em consideração pelos critérios de *threshold*, as diferenças na forma espectral não podem ser explicadas pelo ruído, e não se pode afirmar que o pico esteja homogêneo.

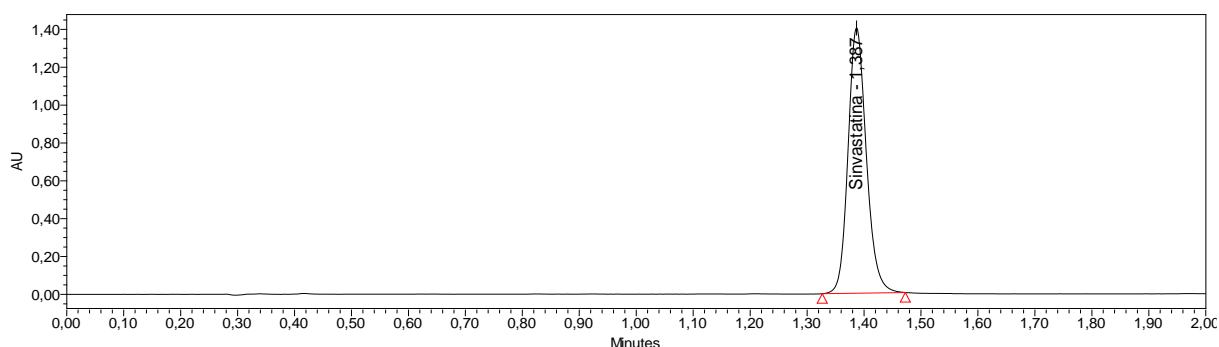


FIGURA 32 – CROMATOGRAMA DA SOLUÇÃO PADRÃO 0,088 mg/mL DE SINVASTATINA EM TFS pH 7,0 + 0,50% LSS
FONTE: O AUTOR, 2014.

TABELA 19 – PARÂMETROS CROMATOGRÁFICOS DA SOLUÇÃO PADRÃO 0,088 mg/mL DE SINVASTATINA EM TFS pH 7,0 + 0,50% LSS

Pico	Tempo de retenção	Pratos Teóricos	Fator de cauda	Purity Angle	Purity Threshold	Puro?
Simvastatina	1,387	106952	1,067	3,741	3,849	Sim

FONTE: O AUTOR, 2014.

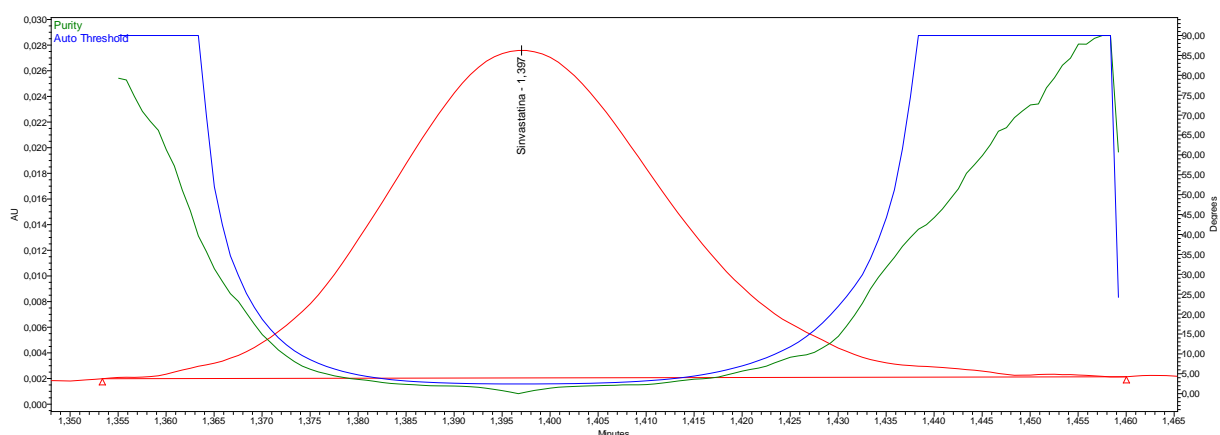


FIGURA 33 – PURITY PLOT DO PICO DE SINVASTATINA NA SOLUÇÃO PADRÃO.
FONTE: O AUTOR, 2014.

Por meio das análises realizadas, conclui-se que não houve interferência do placebo na análise do princípio ativo, pois nas amostras preparadas com placebo

(Figuras 34) não se verificou interferente com o mesmo tempo de retenção do analito, o que indica que o método é seletivo para a quantificação de sinvastatina em comprimidos.

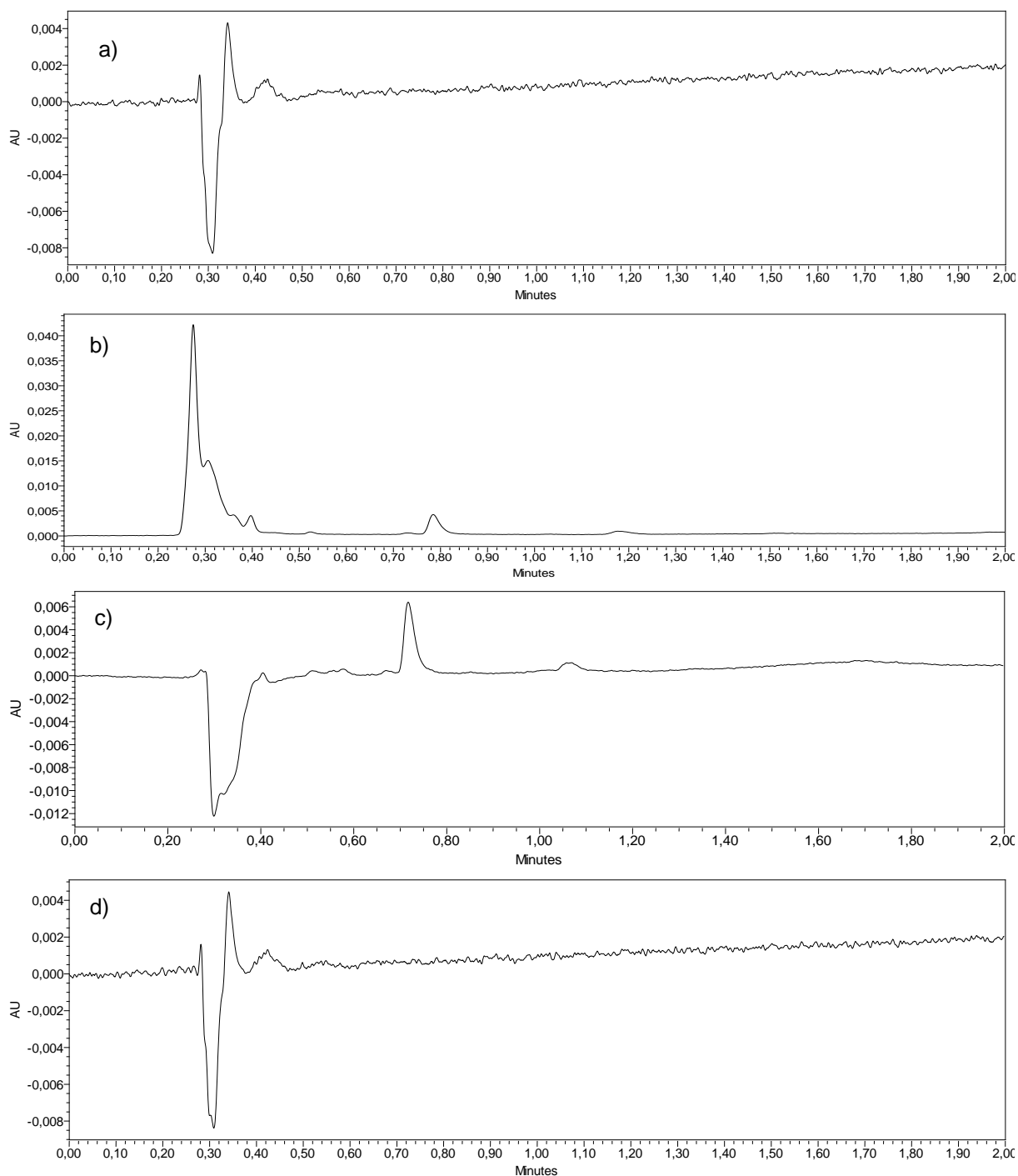


FIGURA 34 – CROMATOGRAMAS DA SOLUÇÃO PLACEBO NOS MEIOS a) TFS pH 7,0 + 0,50% LSS; b) FaSSGF; c) FaSSIF; d) SCoF.
FONTE: O AUTOR, 2014.

5.2.3.2.2 Linearidade

Linearidade é a capacidade de um método analítico em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (CHAN et al., 2004).

A linearidade do método em questão foi avaliada na faixa de 0,00223 mg/mL (2,5% da concentração da amostra na apresentação de 80 mg/comp) a 1,0704 mg/mL (120% da concentração da amostra na apresentação de 80 mg/comp), compreendendo assim o menor ponto da apresentação de 10 mg/comp ao maior ponto da apresentação de 80 mg/comp.

As amostras foram preparadas conforme Tabela 9, em triplicata e em 13 níveis de concentração.

Nestas condições, obteve-se coeficiente de correlação linear (R) 0,9997, e coeficiente de determinação (R^2) 0,9995, valores estes que estão de acordo com o especificado para este parâmetro ($R \geq 0,99$) de acordo com a Norma RE 899/2003, indicando que o método é linear.

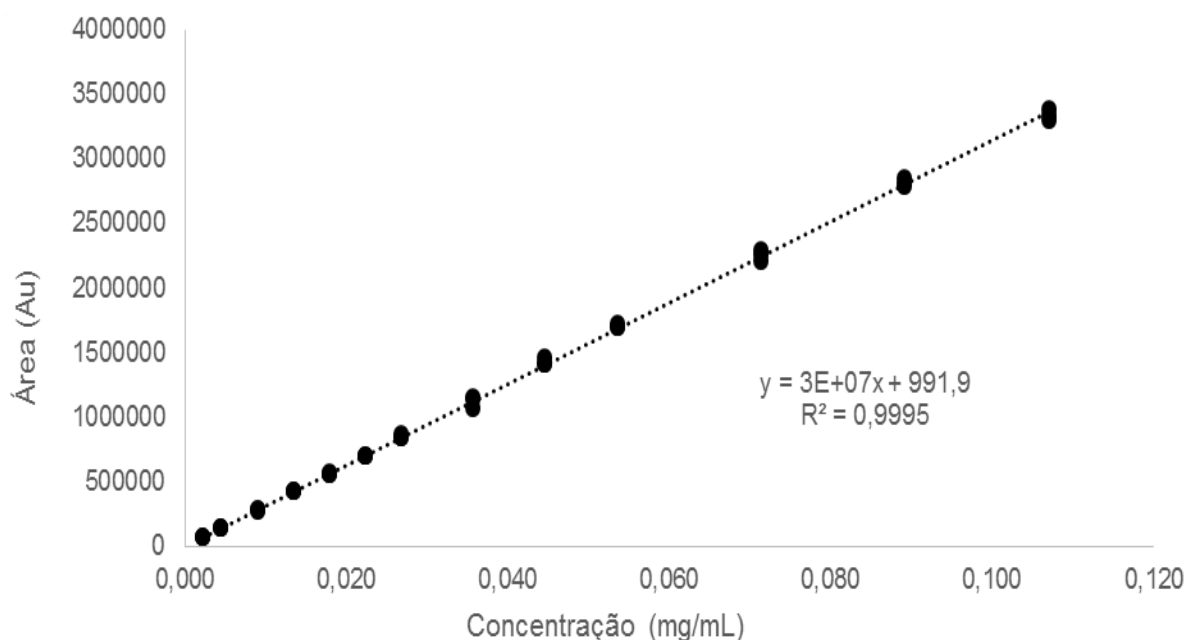


FIGURA 35 – EQUAÇÃO DA RETA, COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO E GRÁFICO DE LINEARIDADE DA SÍNVASTATINA OBTIDOS ATRAVÉS DE REGRESSÃO LINEAR 1/X.
FONTE: O AUTOR, 2014.

A análise dos mínimos quadrados (Tabela 20) permitiu observar que o $F_{\text{significação}}$ foi menor do que 0,05 (nível de significância), garantido a validade da regressão linear com nível de confiança de 95%.

TABELA 20 – ANÁLISE DOS MÍNIMOS QUADRADOS DA REGRESSÃO LINEAR DE SINVASTATINA

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	SQ*	QM**	$F_{\text{calculado}}$	$F_{\text{significação}}$
Regressão	1	3,97E+13	3,97E+13	73957,18	1,11E-62
Resíduo	37	1,99E+10	5,37E+08		
Total	38	3,97E+13			

SQ* - Soma Quadrática (para a regressão é calculado como a soma quadrática da diferença entre o valor calculado da resposta e a média das respostas obtidas. Para os resíduos SQ é calculado como a soma quadrática da diferença entre a resposta obtida e a resposta calculada para os níveis da linearidade).

QM** - Média Quadrática (é o SQ dividido pelo respectivo grau de liberdade).

$F_{\text{calculado}}$ - é o QM da regressão dividido pelo QM do resíduo.

O gráfico de resíduos (Figura 36) mostrou que os erros foram independentes, de média nula e de variância constante, uma vez que os pontos se apresentaram distribuídos de forma aleatória em torno da reta de resíduo zero, com variância homogênea no início e no final das observações.

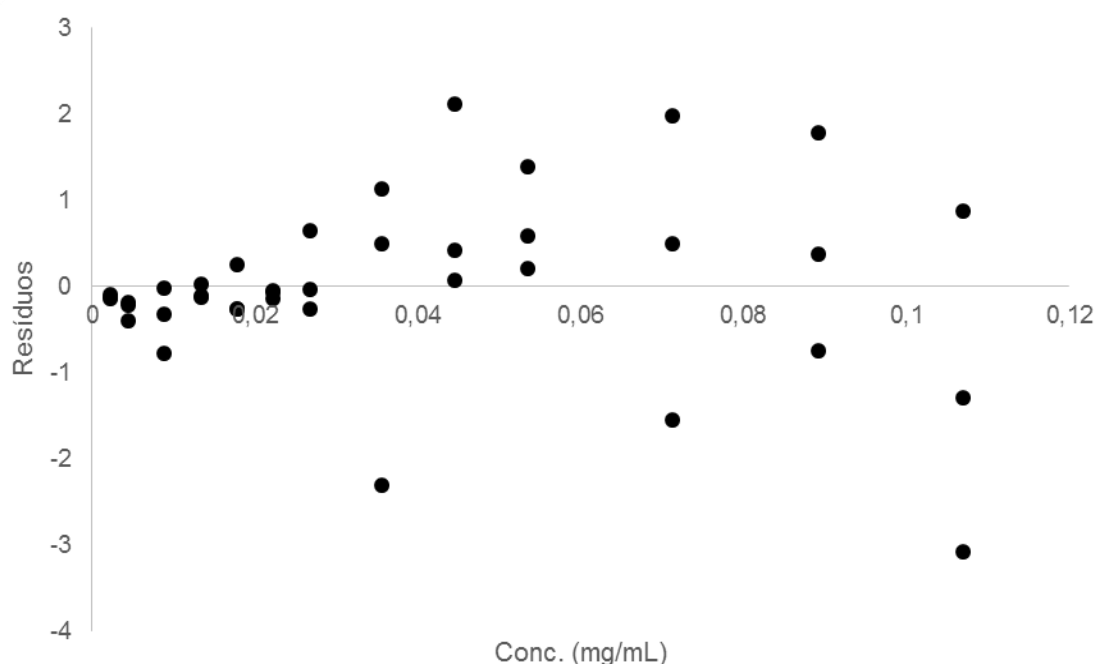


FIGURA 36 – GRÁFICO DOS RESÍDUOS PADRONIZADOS OBTIDO ATRAVÉS DA ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR 1/X DE SINVASTATINA
FONTE: O AUTOR, 2014.

5.2.3.2.3 Precisão e Exatidão

O ensaio de precisão avalia a proximidade dos resultados obtidos por repetidas medidas de múltiplas alíquotas de uma única fonte de matriz (BRASIL, 2003). A importância desse parâmetro está em garantir que os erros aleatórios produzidos pelo método sejam uniformemente distribuídos em torno de certo valor.

A exatidão de um método analítico é definida como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico (BRASIL, 2003). Este parâmetro constitui uma das chaves para o propósito da validação, pois avalia o erro sistemático promovido em toda a etapa analítica.

A precisão intermediária avalia se há concordância entre os resultados encontrados em dias diferentes, por analistas diferentes com a mesma instrumentação ou não

A precisão expressa o grau de dispersão entre medições independentes a partir de uma mesma amostra, submetidas às mesmas condições, enquanto a exatidão mede o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro.

A repetibilidade e a exatidão foram avaliadas calculando o desvio padrão relativo e a porcentagem de recuperação da quantidade conhecida do analito adicionada ao placebo, com determinações em concentrações altas, médias e baixas, com três réplicas cada, contemplando o intervalo linear do procedimento.

Os resultados apresentados na Tabela 21 mostraram uma taxa de recuperação entre 95 e 105% e desvio padrão relativo inferior a 5,0%, o que indicou que o método é preciso e exato, ou seja, é capaz de recuperar com baixa dispersão a quantidade adicionada de sinvastatina até valores próximos dos valores reais.

A precisão intermediária determina o grau de concordância entre os resultados de medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas (amostra preparada por analista diferente e em dias diferentes).

A precisão intermediária do método foi avaliada com dois ensaios em dias diferentes, com analistas e equipamentos diferentes. Foram utilizados comprimidos de 80 mg de sinvastatina, os quais foram previamente caracterizados quanto à sua faixa de uniformidade de conteúdo, em TFP pH 6,8 + 0,50% LSS, em sextuplicata.

Os resultados obtidos foram calculados em termos de porcentagem dissolvida e podem ser visualizados nas Tabelas 22 e 23.

TABELA 21 – REPETIBILIDADE E EXATIDÃO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS

Concentração (%)	Conc. Teórica ¹ (mg/mL)	Conc. Recuperada (mg/mL)	% Recuperada	Média da % Recuperada	DPR (%)
20%	0,00411	0,00423	102,85	101,83	1,09
	0,00333	0,00336	100,65		
	0,00356	0,00363	101,97		
80%	0,07656	0,07841	102,42	101,26	1,34
	0,07910	0,07891	99,76		
	0,08000	0,08127	101,59		
120%	0,10678	0,10626	99,52	101,6	1,90
	0,10811	0,1117	103,32		
	0,10900	0,11115	101,97		

FONTE: O AUTOR, 2014.

TABELA 22 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS – 1º DIA

Amostra	% dissolvida	Média (%)	DPR (%)
1	91,74	95,37	3,47
2	95,43		
3	101,20		
4	93,28		
5	94,03		
6	96,56		

FONTE: O AUTOR, 2014.

Os resultados descritos nas Tabelas 22 indicaram que o método é preciso, uma vez que o desvio padrão relativo foi inferior ao especificado de 5%.

Verificou-se que o método é também preciso quando avaliado em dias diferentes, com analistas e equipamentos diferentes, uma vez que o desvio padrão relativo foi inferior ao preconizado de 5,0% (Tabela 24).

TABELA 23 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS – 2º DIA

Amostra	% dissolvida	Média (%)	DPR (%)
1	94,11	94,02	0,93
2	94,24		
3	92,56		
4	94,36		
5	93,66		
6	95,20		

FONTE: O AUTOR, 2014.

TABELA 24 – PRECISÃO INTERMEDIÁRIA DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVASTATINA EM COMPRIMIDOS

Amostra	% dissolvida 1° dia	% dissolvida 2° dia	Média (%)	DPR comparativo (%)
1	91,74	94,11		
2	95,43	94,24		
3	101,20	92,56		
4	93,28	94,36	94,70	2,55
5	94,03	93,66		
6	96,56	95,20		
Média (%)	95,37	94,02		
DPR (%)	3,47	0,93		

FONTE: O AUTOR, 2014.

A comparação entre os resultados de ambos os ensaios de repetibilidade (Tabela 24) demonstrou que o método desenvolvido é preciso quando realizado por analistas diferentes, com equipamentos e em dias diferentes.

5.2.3.2.4 Robustez

Robustez é capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal (CHAN et al., 2004).

A robustez do método foi avaliada através das análises de amostras correspondentes à concentração de 100% do analito frente às seguintes alterações no método: lote da coluna cromatográfica, fluxo e concentração da fase móvel e temperatura do forno.

Os resultados destas análises foram comparados com os resultados de análises sem alterações no método, e, para este caso, considerou-se como valor de referência para comparação a média das % dissolvidas na análise da precisão intermediária.

O valor de referência de porcentagem dissolvida para comparação das amostras, bem como os resultados da variação obtida para cada modificação realizada no método analítico, podem ser visualizados na Tabela 25.

TABELA 25 – ROBUSTEZ DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO DE SINVESTATINA COMPRIMIDOS

Modificação	Teor (%)	Varição (%)
Sem alteração	94,70	N/A
Temp.coluna = 35°C	93,26	1,52
Temp.coluna = 45°C	93,34	1,43
Fluxo = 0,35 mL/min	93,22	1,57
Fluxo = 0,45 mL/min	93,54	1,23
FM Condição 1	94,54	0,16
FM Condição 2	93,45	1,32
Coluna cromatográfica	93,72	1,03

FONTE: O AUTOR, 2014.

5.2.3.3 Análise de perfil de dissolução em Aparato II (pás)

As cinco formulações cuja diferença residia apenas na origem da sinvastatina (diferentes fornecedores) foram analisadas quanto ao perfil de dissolução. Os resultados são mostrados nas Figuras 37 e 38. As diferenças na solubilidade dos diferentes lotes de sinvastatina não teve impacto no perfil de dissolução dos comprimidos, comprovando que o perfil de dissolução não representa ferramenta discriminativa para avaliar a adequabilidade de formulações contendo sinvastatina.

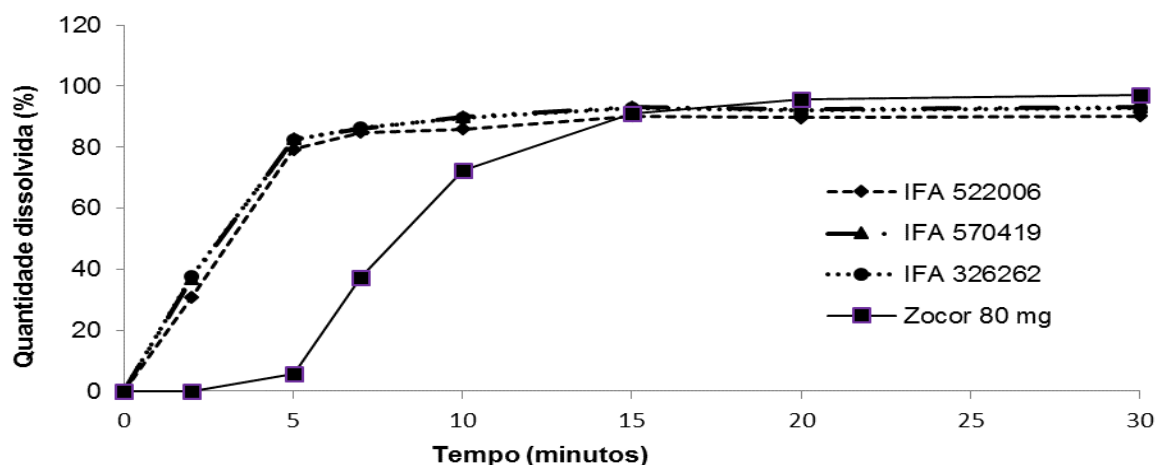


FIGURA 37 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE SINVESTATINA 80 mg DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM ATIVO DE DIFERENTES FORNECEDORES, MEIO 900 mL DE TFS pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, APARATO PÁS E AGITAÇÃO DE 50 RPM.

FONTE: O AUTOR, 2013.

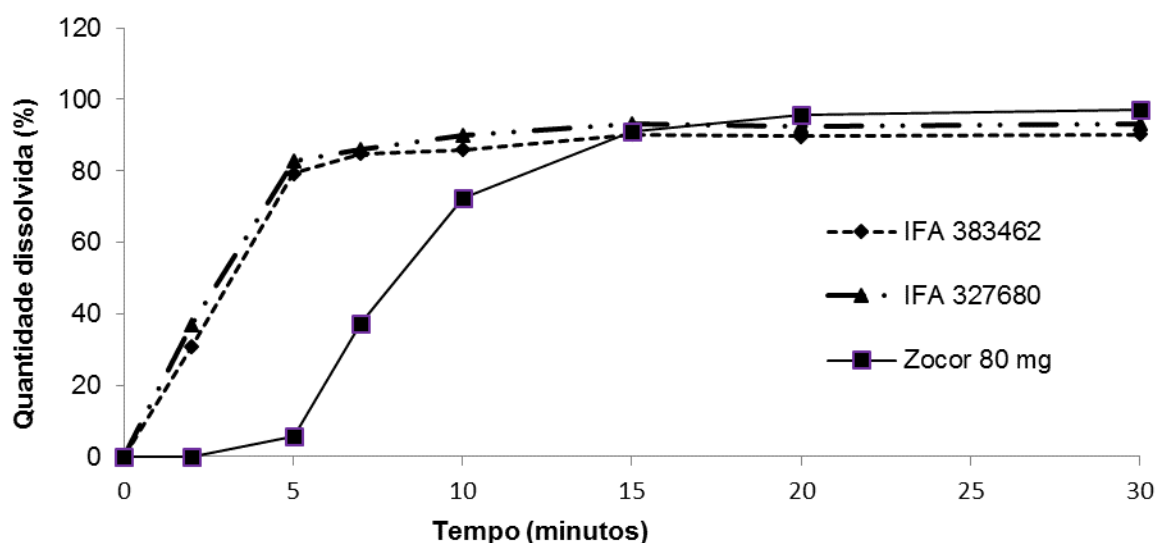


FIGURA 38 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA 80 mg, DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINVASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, MEIO 900 mL DE TFS pH 7,0 COM 0,5% DE LAURIL SULFATO DE SÓDIO, 37°C, APARATO PÁS E AGITAÇÃO DE 50 RPM.
FONTE: O AUTOR, 2013.

Apesar da semelhança entre os perfis de dissolução das formulações teste, verificou-se uma ligeira redução na quantidade final dissolvida com relação ao medicamento de referência, fato este compatível com o observado na análise de solubilidade intrínseca.

5.2.3.4 Análise de perfil de dissolução em Aparato IV (célula de fluxo)

Uma vez que o método de dissolução apresentado pela USP 37 não foi capaz de evidenciar a diferença entre as formulações teste e o medicamento referência de modo que fosse possível o estabelecimento de correlação IVIV, um método em dissolutor de célula de fluxo com meios biorrelevantes foi desenvolvido, com o intuito de mimetizar a dissolução do medicamento durante sua passagem pelo TGI, conforme figuras 39 e 40.

No entanto, o método desenvolvido em dissolutor de célula de fluxo também não foi capaz de evidenciar diferença entre as formulações preparadas com sinvastatina de diferentes fornecedores, conforme pode ser observar nas figuras 39 e 40.

Assim como nas Figuras 37 e 38, todas as formulações apresentaram velocidade de dissolução mais rápida que o medicamento de referência Zocor® 80 mg/comp.

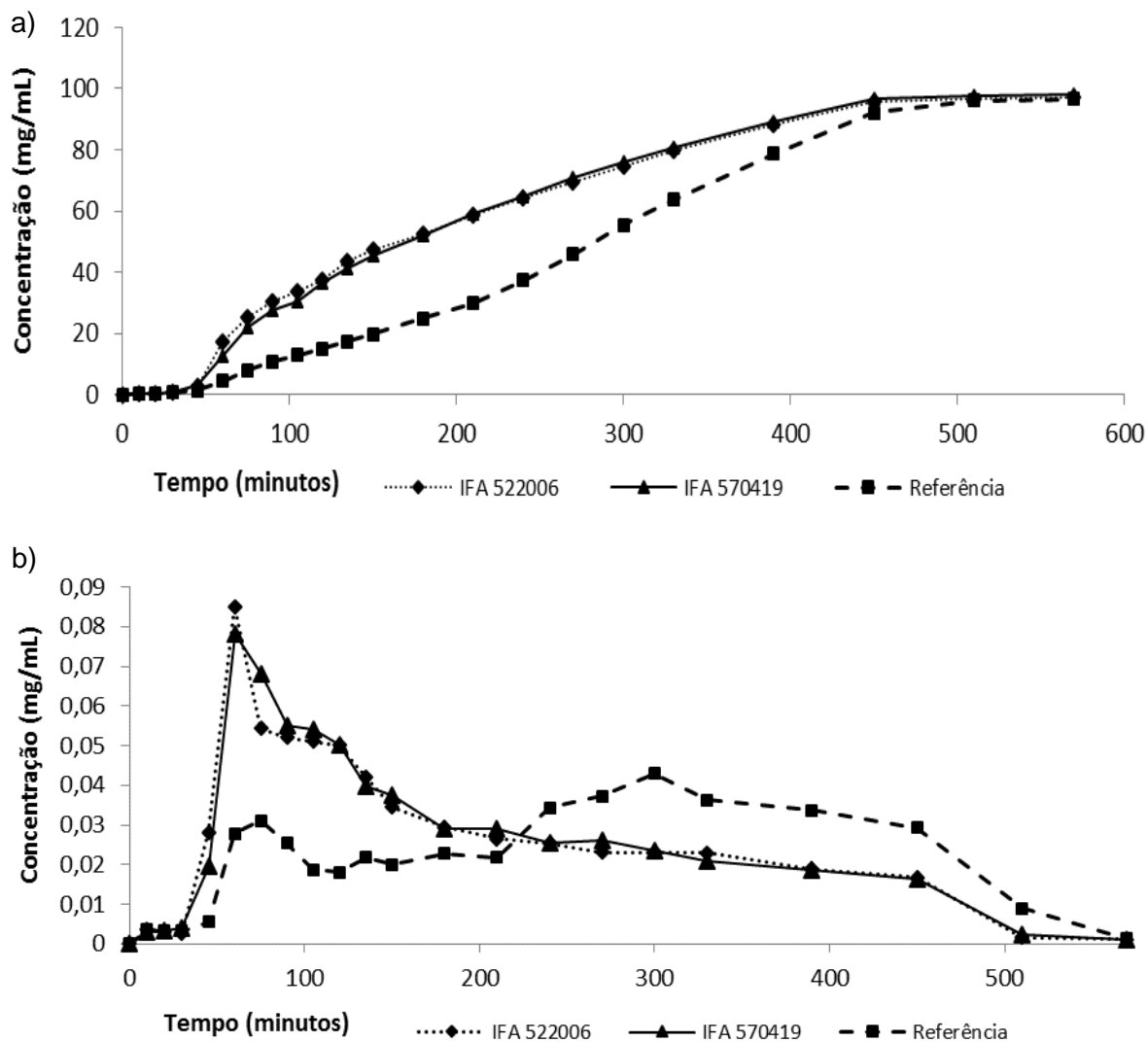


FIGURA 39 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA 80 mg DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E DOS MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINVASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, EM DISSOLUTOR DE CÉLULA DE FLUXO, COM MEIOS FaSSGF POR 30 MINUTOS, FaSSIF POR 370 MINUTOS E SCoF POR 170 MINUTOS, FLUXO 8 mL/min, TEMPERATURA 37°C, TEMPO TOTAL DE ANÁLISE DE 9,5 HORAS. a) GRÁFICO CUMULATIVO; b) GRÁFICO DIFERENCIAL.

FONTE: O AUTOR, 2014.

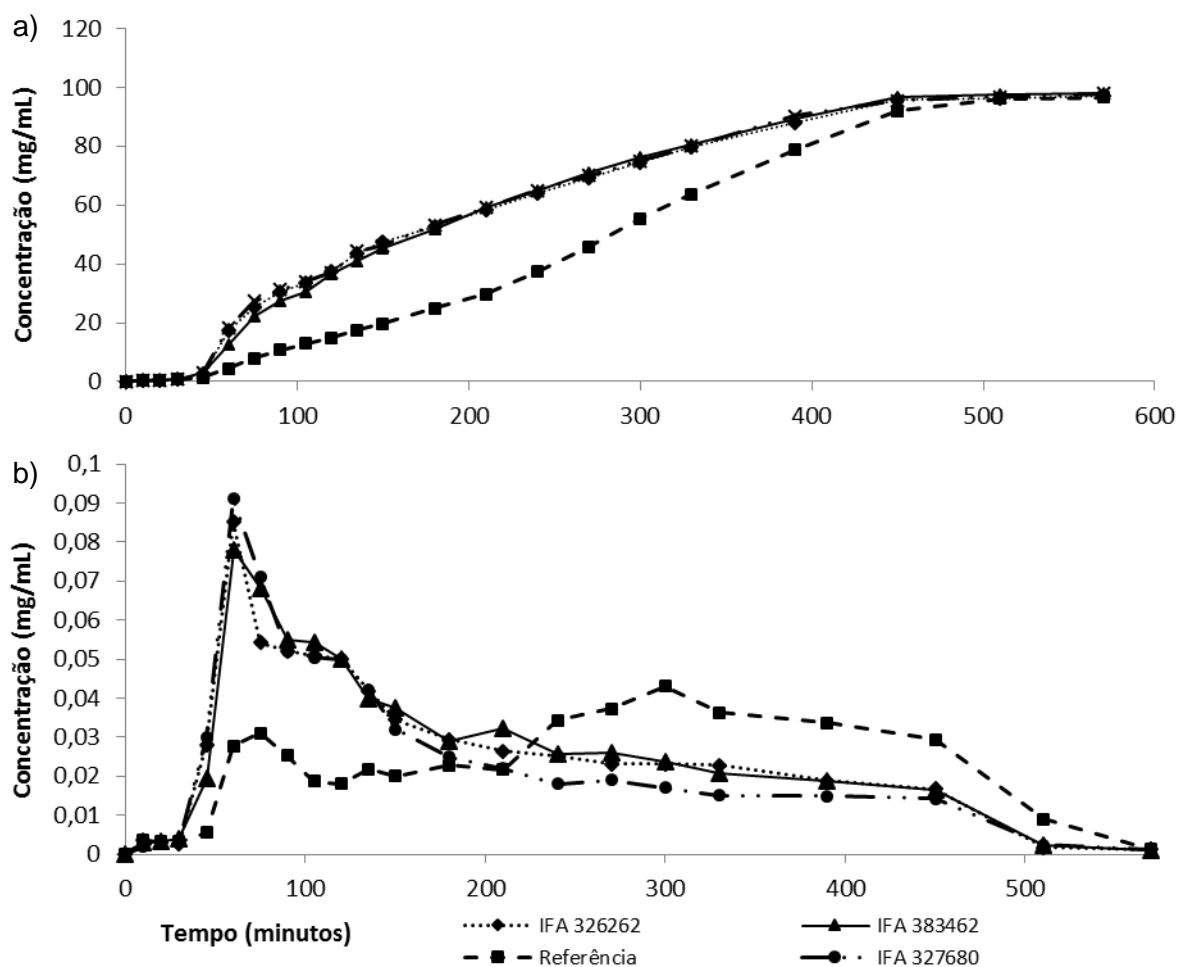


FIGURA 40 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO, DE COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA 80 mg, DO MEDICAMENTO REFERÊNCIA ZOCOR E MEDICAMENTOS TESTE PRODUZIDOS COM SINVASTATINA DE DIFERENTES FORNECEDORES, EM DISSOLUTOR DE CÉLULA DE FLUXO COM MEIOS FaSSGF POR 30 MINUTOS, FaSSIF POR 370 MINUTOS E SCoF POR 170 MINUTOS, FLUXO 8 mL/min, TEMPERATURA 37°C, TEMPO TOTAL DE ANÁLISE DE 9,5 HORAS. a) GRÁFICO CUMULATIVO; b) GRÁFICO DIFERENCIAL. FONTE: O AUTOR, 2014.

A Formulação 1, preparada com o lote de IFA Fornecedor 1, foi submetida ao teste de bioequivalência, e, embora bioinequivalente (Figura 5 e Tabela 1), apresentou parâmetros farmacocinéticos bastante próximos ao medicamento de referência (Tabela 1), ressaltando a ausência de correlação entre dados *in vitro* e *in vivo*.

De fato, os métodos de dissolução *in vitro* foram capazes de prever o início da absorção mais rápida para a formulação teste, contudo não foram capazes de explicar a redução na extensão da absorção, representada pelo parâmetro ASC.

Ao contrário do ocorrido no perfil de dissolução, pôde-se estabelecer uma relação entre a solubilidade intrínseca e a extensão da absorção *in vivo*, uma vez

que a Formulação 1 apresentou solubilidade em água cerca de 28% inferior ao Zocor®, o que provavelmente está relacionado à menor área sob a curva (ASC) observada *in vivo*.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados no presente trabalho permitem concluir que os cinco lotes oriundos de fabricantes diferentes são cristalinos e pertencentes à forma I, a qual é a única forma polimórfica conhecida de sinvastatina estável à temperatura ambiente. Todavia, a análise de difração de raios X evidenciou que embora cristalinos, estes lotes apresentam graus de cristalinidade diferentes entre si, sendo que os IFAs com menor tamanho de partícula são menos cristalinos e consequentemente mais solúveis.

A maioria dos excipientes comumente empregados na formulação influenciam tanto positivamente quanto negativamente na solubilidade do ativo quando avaliados na proporção de 50%. Entretanto, não exercem influência alguma quando empregados nas concentrações usuais em formas farmacêuticas sólidas orais.

O butilhidroxianisol e a sinvastatina apresentaram interação, uma vez que a mistura dos dois induz uma redução na temperatura de fusão do BHA, da sinvastatina, ou de ambos. Uma vez fundido, o BHA solubiliza a sinvastatina, a qual é mais lipossolúvel e tende a permanecer na fase oleosa e a solubilizar menos em água. Contudo, nas concentrações usuais em FFSO (0,01 a 0,10%) tal interação não ocorre, ou ocorre em grau não significativo, uma vez que a quantidade de BHA presente no comprimido não é suficiente para dissolver a sinvastatina.

Já o estearato de magnésio foi responsável por um aumento significativo na solubilidade do IFA, ao contrário do descrito na literatura. Devido à sua estrutura química anfótera, este excipiente exerceu função de tensoativo, facilitando o contato da molécula do ativo com a água, quando empregado em misturas simples. Já quando submetido a processo de compressão, verificou-se que o estearato de magnésio empregado em concentrações superiores a 1,00% (*p/p*) impermeabiliza a formulação, aumentando o tempo de desintegração e reduzindo a solubilidade do ativo. Desta forma, a quantidade ótima de estearato de magnésio a ser empregada na formulação de modo a se obter melhor solubilização da sinvastatina é de 1,00% (*p/p*).

Por fim, conclui-se que de fato o perfil de dissolução, tanto em aparato do tipo pás como célula de fluxo, não representa ferramenta discriminativa para o desenvolvimento de comprimidos de sinvastatina, tampouco possui correlação com

a velocidade e extensão da absorção *in vivo*. Contudo, pôde-se estabelecer uma relação entre a solubilidade do ativo no produto acabado e a extensão da absorção, uma vez que formulações menos solúveis demonstraram uma menor ASC.

7 REFERÊNCIAS

ACEVES-HERNÁNDEZ, J. M. et al. Solubility of simvastatin: A theoretical and experimental study. **Journal of Molecular Structure**, v. 995, n. 1–3, p. 41-50, 5/31/2011.

ALAKHALI, K. et al. Pharmacokinetic of simvastatin study in Malaysian subjects. **IOSR Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 1, p. 46-51, 2013.

ALVAREZ-LUJE, A. et al. Stability study of simvastatin under hydrolytic conditions assessed by liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 6, p. 1631-1636, 2005

ARAÚJO, G. L. B. Caracterização no estado sólido dos polimorfos de tibolona. Tese de Doutorado. São Paulo, 2009.

BEHERA, A. L.; SAHOO, S. K.; PATIL, S. V. Enhancement of Solubility: A Pharmaceutical Overview. **Scholars Research Library**. n. 2, v. 2, p. 310-318, 2010.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência**, 2002. Disponível em <www.anvisa.gov.br/medicamentos/bioequivalencia/publicacoes>. Acesso em 22/03/2013.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica 003. **Dispõe sobre a avaliação da solubilidade de fármacos e o desenvolvimento de métodos de dissolução para estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo**. Diário Oficial da União, Brasília, 18 Abr. 2013.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 37. **Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de biodisponibilidade relativa / bioequivalência, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 03 Ago. 2011.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 31. **Guia para realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo**. Diário Oficial da União, Brasília, 11 Ago. 2010.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 8. **Dispõe sobre realização de alteração, inclusão, suspensão, reativação e cancelamento pós registro de medicamentos e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 06 Out. 2009.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RE Nº 899. **Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos"**. Diário Oficial da União, Brasília, 29 Mai. 2003.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 483. **Guia para Ensaio de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata (FFSOLI)**. Diário Oficial da União, Brasília, 19 Mar. 2002.

BRITTAIN, H. G. *Analytical Profile of Drug Substances and Excipients*. Academic Press Ed. New Jersey, USA, 2002.

BRITTAIN, H. G. **Polymorphism in pharmaceutical solids**. Informa Healthcare, 2009. ISBN 9781420073218.

BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, B. **Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Twelfth Edition**. McGraw-Hill Education, 2011. ISBN 9780071624428.

BRUS, J.; JEGOROV, A. Through-Bonds and Through-Space Solid-State NMR Correlations at Natural Isotopic Abundance: Signal Assignment and Structural Study of Simvastatin. **J. Phys. Chem. A**, v. 108, p. 3955-3964, 2004.

BUGAY, D. E. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 43-65, 2001.

BUDAVARI, S (Ed.). *The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 14a ed. New Jersey: Merck Research Laboratories, 2006. p. 143, 722, 968, 1325, 1471.

CAMMARN, S. R.; SAKR, A. Predicting dissolution via hydrodynamics: salicylic acid tablets in flow through cell dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 419, n. 1-2, p. 175-185, 2011.

CARDOT, J-M.; BEYSSAC, E.; ALRIC, M. In vitro – In Vivo Correlation: Importance of dissolution in IVIVC. **Dissolution Technologies**, v.02, p.15-19, 2007. Disponível em < http://www.dissolutiontech.com/DTresour/200702Articles/DT200702_A02.pdf> Acesso em: 20 jul. 2013

CHAN, C. C. et al. **Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification**. Wiley, 2004. ISBN 9780471463719.

COATES, J. *Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach*. Encyclopedia of Analytical Chemistry. R.A. Meyers Ed., USA, 2000.

CORRIGAN, O. I.; DEVLIN, Y.; BUTLER, JACKIE. Influence of dissolution medium buffer composition on ketoprofen release from ER products and in vitro–in vivo correlation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 254, p. 147-154, 2003.

CRAIG, D. Q. M.; READING, M. *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. CRC Press, New York, 2007.

D'ARCY, D. M.; LIU, B.; CORRIGAN, O. I. Investigating the effect of solubility and density gradients on local hydrodynamics and drug dissolution in the USP 4 dissolution apparatus. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, n. 1–2, p. 175-185, 2011.

DONGREE, A.; BHISEY, P.; KHOPKAR, U. Polarized light microscopy. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v. 73, n. 3, p. 206-208, 2007.

EL KARBANE, M. et al. Development and validation of a reversed-phase HPLC method for simultaneous analysis of butylhydroxyanisol, simvastatin and its impurities in tablet dosage forms. **Ann Pharm Fr**, v. 72, n. 4, p. 244-55, Jul 2014.

FIELD, L. D.; STERNHELL, S.; KALMAN, J. R. **Organic Structures from Spectra**. Wiley, 2008. ISBN 9780470753705.

GALIA, E. et al. Evaluation of Various Dissolution Media for Predicting In Vivo Performance of Class I and II Drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 5, p. 698-705, 1998.

GESTEL, B.; Differential Scanning Calorimetry. Literature study Solid State Chemistry, Radboud University Nijmegen, 2007.

GRAESER, K. A.; STRACHAN, C. J.; PATTERSON, J. E.; GORDON, K. C.; RADES, T. Physicochemical properties and stability of two differently prepared amorphous forms of simvastatin. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 1, p. 128-135, 2008.

HAMELIN, B. A.; TURGEON, J. Hydrophilicity/ lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 19, n. 1, p. 26-37, 1/1/ 1998.

HUŠÁK, M. et al. Simvastatin: structure solution of two new low-temperature phases from synchrotron powder diffraction and ss-NMR. **Structural Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 511-518, 2010.

JIN, S.-J. et al. Population Pharmacokinetic Analysis of Simvastatin and its Active Metabolite with the Characterization of Atypical Complex Absorption Kinetics. **Pharmaceutical Research**, v. 31, n. 7, p. 1801-1812, 2014.

JUN, S. W. et al. Preparation and characterization of simvastatin/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex using supercritical antisolvent (SAS) process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 413-421, 2007.

KAKHI, M. Classification of the flow regimes in the flow-through cell. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, p. 531-544, 2009a.

KAKHI, M. Mathematical modeling of the fluid dynamics in the flow-through cell. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 376, p. 22-40, 2009b.

KANG, D.-K. et al. Effect of polymorphic CYP3A5 genotype on the single-dose simvastatin pharmacokinetics in healthy subjects. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, p. 87+, 2007.

KONG, F.; SINGH, R. P.; Disintegration of Solid Foods in Human Stomach. *Journal of Food and Science*. v. 73, n. 5, p. 67-80, 2008.

KOTROTSIOS, A., Correlation of In-vitro Drug Dissolution and In-vivo Drug Absorption of Various Therapeutically Equivalent Pharmaceutical Solid Dosage Forms of Simvastatin. **PCOM Biomedical Studies Student Scholarship**. Paper 42. 2012.

KRISHNAIAH, Y. S. R.; Pharmaceutical Technologies for Enhancing Oral Bioavailability of poorly soluble drugs. **Journal of Bioequivalence & Bioavailability**. v. 2, n. 2, p. 28-36, 2010.

LARSSON, J. Methods for measurement of solubility and dissolution rate of sparingly soluble drugs. Faculty of Engineering, Lund University, 2009.

LEVY, G.; GUMTOW, R. H. Effect of certain tablet formulation factors on dissolution rate of the active ingredient III. Tablet lubricants. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 12, p. 1139-1144, 1963.

LIU, R. **Water-Insoluble Drug Formulation, Second Edition**. Taylor & Francis, 2008. ISBN 9781420009552.

LU, Y.; KIM, S.; PARK, K. In vitro–in vivo correlation: Perspectives on model development. **International Journal of Pharmaceutics**, v.418, p. 142-148, 2011. Disponível em <http://ac.els-cdn.com/S037851731100024X-main.pdf?_tid=b7225876-0bda-11e3-a0b8-00000aab0f01&acdnat=1377252155_58755df4526c9f4975fde539bc46fb5b> Acesso em: 20 jul. 2013

LUSIS, A. J. Atherosclerosis. **Nature**. v. 407, p. 233, 2000.

MCCONNELL, E. L.; FADDA, H. M.; BASIT, A. W. Gut instincts: Explorations in intestinal physiology and drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, n. 2, p. 213-226, 12/8/ 2008.

MARQUES, M. R. C., BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. São Paulo: **Revista Analítica**, Ano 1, n 1, p 48-51, 2002.

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. **Dissolution Technologies**. v. August, p. 15-28, 2011.

MIRCIOIU, C. Dissolution – Bioequivalence Non-Correlations. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 96, p. 262–264. 2005

MOFFAT, A. C. et al. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: In Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material**. Pharmaceutical Press, 2004. ISBN 9780853694731.

MOREIRA, D. C. F.; STRAUSS, M.; SIGOLI, F. A.; MAZALI, I. O. Avaliação da influência da cristalinidade sobre a determinação do tamanho de cristalito do óxido semicondutor SnO₂. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), 34^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2011.

MURPHY, D. B.; SPRING, K. R.; FELLERS, T. J.; DAVIDSON, M. W. **Introduction to Optical Birefringence**. Nikon MicroscopyU, 2012. Disponível em <<http://www.microscopyu.com/print/articles/polarized/birefringence-print.html>> Acesso em 15/10/2015.

MURTAZA, G. Solubility enhancement of simvastatin: A review. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 69, n. 4, p. 581-590, 2012.

OLIVEIRA, M. A. D. et al. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v. 33, p. 1653-1657, 2010.

RANG, H. P.; DALE, M. **Rang and Dale's Pharmacology**. Churchill Livingstone, 2007. ISBN 9780443069116.

RAO, M.; MANDAGE, Y.; THANKI, K.; BHISE, S. Dissolution Improvement of Simvastatin by Surface Solid Dispersion Technology. **Dissolution Technologies**. v. may 2010, p. 27-34, 2010.

ROBINSON, P. C.; DAVIDSON, M. W. **Introduction to Polarized Light Microscopy**. Nikon MicroscopyU, 2012. Disponível em <<http://www.microscopyu.com/print/articles/polarized/polarizedintro-print.html>> Acesso em 15/10/2015.

ROUDIER, B. et al. In Vitro- In Vivo Correlation's Dissolution Limits Setting. **Pharm Res**. v. 31, n. 9, p. 2529-2538, 2014.

SCHMITZ, G.; TORZEWSKI, M. **HMG-CoA Reductase Inhibitors**. Birkhäuser Basel, 2012. ISBN 9783034881357.

SERAJUDDIN, A.T.M., RANADIVE, A.S., MAHONEY, M.E.. Relative lipophilicities, solubilities, and structure pharmacological considerations of 3-HMG-CoA reductase inhibitors pravastatin, lovastatin, mevastatin and simvastatin. **J. Pharm. Sci.** v. 80 p. 830-834, 1991.

SILVA, A. S.; ROCHA FILHO, J. A.; BASTOS, L. L.; SANTANA, D. P.; WANDERLEY, A. G. Acompanhamento farmacoterapêutico em pacientes com dislipidemia em uso de sinvastatina no Componente Especializado de Assistência Farmacêutica: um estudo piloto. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**. v. 34, p. 51-57, 2013.

SILVA, T. D. Desenvolvimento de métodos analíticos e de formulações para estatinas. Dissertação de Mestrado. Belo Horizonte, 2009.

SIMÕES, R. G. et al. Energetics and Structure of Simvastatin. **Mol. Pharmaceutics**. v. 10, p. 2713-2722, 2013.

SINGH, H.; PHILIP, B.; PATHAK, K. Preparation, Characterization and Pharmacodynamic Evaluation of Fused Dispersions of Simvastatin using PEO-PPO Block Copolymer. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR**, v. 11, n. 2, p. 433-445, Spring, 2012.

SOVIZI, M. R.; HOSSEINI, S.G. Studies on the thermal behavior and decomposition kinetic of drugs cetirizine and simvastatin. **J Therm Anal Calorim.** n.111, p. 2143-2148, 2013.

SOUZA, M. A. F.; CONCEIÇÃO, M. M.; SILVA, M. C. D.; SOLEDADE, L. E. B.; SOUZA, A. G. Thermal And Kinetic Study Of Statins: Simvastatin and lovastatin. **J Therm Anal Calorim.** v. 87, n. 3, p. 859-863, 2007.

STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V.O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**, v.31, p.63-70, 1995.

STUART, B. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Wiley Ed. 2000.

TAUPITZ, T.; DRESSMAN, J. B.; KLEIN, S. New formulation approaches to improve solubility and drug release from fixed dose combinations: Case examples pioglitazone/glimepiride and ezetimibe/simvastatin. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 1, p. 208-218, 5// 2013.

THOMPSON, R. C. et al. Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. **www.thelancet.com**. Disponível em: <<http://download.thelancet.com/flatcontentassets/pdfs/S014067361360598X.pdf>> Acesso em: 20/03/2014

VOGT, F.G.; KORD, A. S. Development of Quality-By-Design Analytical Methods. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 797-812, 2011.

WHO. The top 10 causes of death. Fact Sheet nº310. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>> Acesso em: 11/03/2014

WØRSOE, J. *et al.* Gastric transit and small intestinal transit time and motility assessed by a magnet tracking system. **BMC Gastroenterology**. v. 11, p. 145, 2011

XAVIER, H. T. et al. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Bras. Cardiol.** v. 101, n. 4, 2013.

ZOELLER, T.; KLEIN, S. Simplified Biorelevant Media for Screening Dissolution Performance of Poorly Soluble Drugs. **Dissolution Technologies**, p. 8-13, 2007.